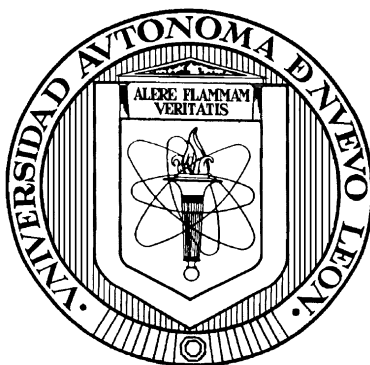


# **UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE NUEVO LEÓN**

**FACULTAD DE MEDICINA**

**SUBDIRECCIÓN DE INVESTIGACIÓN Y ESTUDIOS**

**DE POSGRADO**



## **DETERMINACIÓN DE ANTICUERPOS ANTI-CITOPLASMA DE NEUTROFILOS EN PACIENTES CON TUBERCULOSIS ACTIVA**

**Por**

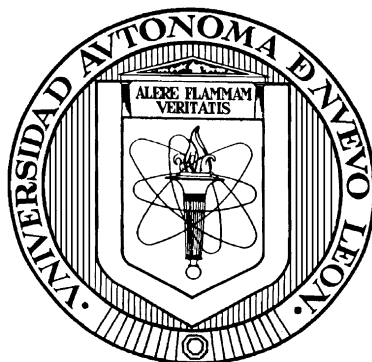
**M.C.P JORGE ANTONIO ESQUIVEL VALERIO**

**Como requisito parcial para obtener el Grado de  
DOCTORADO EN MEDICINA**

**Julio de 2007**

**UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE NUEVO LEÓN**

**FACULTAD DE MEDICINA**



**DETERMINACIÓN DE ANTICUERPOS ANTI-CITOPLASMA DE  
NEUTROFILOS EN PACIENTES CON TUBERCULOSIS  
ACTIVA**

**Por**

**M.C.P JORGE ANTONIO ESQUIVEL VALERIO**

**Como requisito parcial para obtener el Grado de  
DOCTORADO EN MEDICINA**

**Julio de 2007**

“DETERMINACION DE ANTICUERPOS ANTICITOPLASMA DE  
NEUTROFILOS EN PACIENTES CON TUBERCULOSIS ACTIVA”

Aprobación de la Tesis:

---

DR. MARIO CESAR SALINAS CARMONA  
Director de Tesis

---

DR. MARIO A. GARZA ELIZONDO  
Co-Director de Tesis

---

DRA. AGNES REVOL  
Miembro de la Comisión de Tesis

---

DR. ELOY CARDENAS ESTRADA  
Miembro de la Comisión de Tesis

---

DR. ROLANDO TIJERINA MENCHACA  
Miembro de la Comisión de Tesis

---

DR. DIONICIO A. GALARZA DELGADO  
Subdirector de Estudios de Posgrado

## **AGRADECIMIENTOS**

Quiero expresar mi más sincero agradecimiento al Dr. en Ciencias Dr. Mario César Salinas Carmona por aceptar ser mi Asesor de tesis. Así como al Dr. en Ciencias Dr. Mario Alberto Garza Elizondo, Dr. Med. Rolando Tijerina Menchaca, Dra. Agnes Revol de Mendoza, Dr. Luis Felipe Flores-Suárez, Dr. Eloy Cárdenas, al Dr. Fernando Góngora por sus valiosas sugerencias e interés, en la revisión del presente trabajo. A la Dra. Jacqueline Rodríguez Amado por apoyarme en la organización de mi trabajo. También por su ayuda en la referencia de pacientes al Dr. Luis Adrián Rendón Pérez.

Al PAICYT por el apoyo económico para la realización de mis estudios.

Al Servicio de Inmunología del Hospital Universitario por permitirme el uso de su equipo y su invaluable ayuda en el desarrollo de este estudio.

A todos mi amigos y compañeros del Servicio de Reumatología del Hospital Universitario que me brindaron consejos y apoyo moral.

A todas las personas que contribuyeron de una forma u otra en la realización de este trabajo.

En especial a Dios por haberme dado la oportunidad de adquirir nuevos conocimientos y destrezas, que me permitan ser mejor persona y me den la

oportunidad de investigar y ayudar a otras personas, también por los momentos que me permitió convivir y disfrutar con mis amigos de esta aventura intelectual.

## **DEDICATORIA**

Este trabajo se lo dedico en particular a mi esposa la Sra. Gloria Juárez Carrillo, a mis hijos Jorge Antonio Esquivel Juárez, David Alejandro y Miguel Ángel, a mis padres Sr. Salvador Esquivel Ramírez y María de Jesús Valerio de Esquivel y a mis hermanos Salvador, Guadalupe Isabel, Ricardo, Rafael, Lourdes, Eva, Elena, David e Israel por su confianza, cariño y por todo el apoyo moral que siempre me han brindado.

## NOMENCLATURA

ANA	Anticuerpos antinucleares.
ANCA	Anticuerpos anti-citoplasma de neutrófilos.
BCG	La vacuna de bacilo de Calmette-Guérin.
BPI	Del inglés: (bactericidal/permeability-increasing protein) que se traduce como proteína bactericida que incrementa la permeabilidad.
C-ANCA	Patrón citoplásmico de anticuerpos anti-citoplasma de neutrófilos observada por el método de inmunofluorescencia indirecta.
CD18	Miembro de la familia de las beta-2 integrinas leucocitarias las cuales son glicoproteínas transmembrana heterodiméricas, conformadas por una cadena alfa variable (CD11a, b ó c) y una única cadena beta (CD18).
CD66	Glicoproteína que interviene en la regulación de la función de los neutrófilos y es un marcador de degranulación.
COMBE	Signo de combe. El ser contacto de un caso bacilífero de tuberculosis hace positivo este criterio
ELISA	Método de laboratorio cuyas siglas en inglés significan (Enzyme Linked Immunoabsorbent Assay) que en español se traduce como Ensayo Inmuno Absorbente Ligado a Enzimas.
Fc gamma RIIB	Receptor IIIB de la porción Fc de la inmunoglobulina G

FITC	Del inglés: (fluorescein isothiocyanate conjugate) se refiere a un conjugado de anti-inmunoglobulina marcada con isotiocianato de fluoresceína.
FMLP	N-formil-metionil-leucil-fenilalanina.
HG1 y HG2	Del inglés: (high mobility group non-histone chromosomal proteins) que se traduce como Proteínas cromosómicas No Histonas del grupo de alta movilidad.
h-lamp	Del inglés: (human–lysosomal associated membrane protein) que se traduce como Proteína de membrana asociada a los lisosomas humanos.
Hsp	Del inglés: (heat shock proteins) que se traduce como Proteínas de choque térmico.
HupB	Proteína de micobacterias parecida a las histonas
IFI	Inmunofluorescencia indirecta.
IgG	Inmunoglobulina G.
IL-1	Interleucina 1.
kDA	Kilodalton. Unidad de masa atómica. Equivalente a 1,000 daltons
LPS	Lipopolisacárido.
MPO	Mieloperoxidasa.
M. tuberculosis	<i>Mycobacterium tuberculosis</i> .
ND	No disponible
P-ANCA	Patrón perinuclear de anticuerpos anti-citoplasma de neutrófilos observada por el método de inmunofluorescencia



	indirecta.
PBS	Del inglés: (Phosphate buffered saline) que significa solución salina de fosfato amortiguadora del pH.
PPD	Derivado proteico purificado estándar; prueba de tuberculosis en piel; prueba cutánea de tuberculina
PR3	Proteinasa 3.
SIDA	Síndrome de la Inmunodeficiencia humana
TB	Tuberculosis
TMB	3,3',5,5' Tetrametil-bencidina.
TB	Tuberculosis
TBP	Tuberculosis pulmonar
TNF	Factor de necrosis tumoral.
TNF-R55	Receptor del factor de necrosis tumoral alfa.
TxB2	Tromboxano B2.
VIH	Virus de la Inmunodeficiencia Humana.
X-ANCA	Patrón atípico de anticuerpos anti-citoplasma de neutrófilos observada por el método de inmunofluorescencia indirecta.

---

# TABLA DE CONTENIDO

---

Capítulo	Página
<b>1. INTRODUCCIÓN.....</b>	<b>1</b>
1.1 Importancia de la determinación de ANCA.....	14
1.2 Originalidad.....	15
1.3 Justificación.....	15
<b>2. HIPÓTESIS.....</b>	<b>16</b>
<b>3. OBJETIVOS.....</b>	<b>17</b>
3.1 Objetivo General.....	17
3.2 Objetivo Específico.....	17
<b>4. PACIENTES Y MÉTODOS.....</b>	<b>18</b>
4.1: Sujetos.....	18
4.2: Métodos.....	19
4.3: Toma y procesamiento de muestras.....	20
4.4 Detalle de los métodos diagnósticos inmunológicos de laboratorio empleados .....	22
4.5 Análisis estadístico .....	28
4.6 Aspectos Éticos .....	29
4.7 Recursos materiales .....	29
4.8 Financiamiento.....	29
<b>5. RESULTADOS.....</b>	<b>30</b>
<b>6. DISCUSIÓN.....</b>	<b>36</b>
<b>7. CONCLUSIONES .....</b>	<b>43</b>
<b>8. BIBLIOGRAFÍA.....</b>	<b>44</b>
<b>9. APÉNDICE .....</b>	<b>58</b>

## ÍNDICE DE TABLAS

<b>Tabla</b>	<b>Página</b>
<b>Tabla 1.</b> Sensibilidad y especificidad de los ANCA en granulomatosis de Wegener.....	<b>58</b>
<b>Tabla 2.</b> Principales características clínicas y demográficas de los 68 pacientes con tuberculosis pulmonar.....	<b>59</b>
<b>Tabla 3.</b> Principales características radiográficas de los 68 pacientes con tuberculosis pulmonar antes del tratamiento antifímico.....	<b>60</b>
<b>Tabla 4.</b> Características clínicas y demográficas de los pacientes según su patrón de ANCA por IF. ....	<b>61</b>
<b>Tabla 5.</b> Resultados bacteriológicos, radiográficos y de proteína C reactiva de los pacientes según su patrón de ANCA por IF. ....	<b>62</b>

## ÍNDICE DE FIGURAS

<b>Figura</b>	<b>Página</b>
<b>Figura 1.</b> Se ilustra la técnica de inmunofluorescencia indirecta, la cual fue utilizada para la determinación de ANCA en sustrato de neutrófilos fijados en etanol y en sustrato de neutrófilos fijados en formalina.....	<b>63</b>
<b>Figura 2.</b> Descripción de la técnica de ELISA para la determinación de los anticuerpos dirigidos contra PR-3, MPO y BPI- ANCA.....	<b>64</b>
<b>Figura 3.</b> Descripción del procedimiento utilizado para la determinación de la PCR de alta sensibilidad.....	<b>65</b>

## ÍNDICE DE GRÁFICAS

Gráficas	Páginas
<b>Gráfica 1.</b> Comparación de la frecuencia de ANCA por IFI en sueros de pacientes con tuberculosis confirmada por cultivos en sueros antes de tratamiento antifímico (TB toma 1) o después de éste (TB toma 2) 5/68 pacientes en el suero de 1ª. toma con tuberculosis tenían VIH y 2/52 en la segunda muestra, todos estos ANCA negativos.....	<b>66</b>
<b>Gráfica 2.</b> Comparación entre los valores de Proteína C reactiva en sueros de segunda toma de pacientes con tuberculosis con ANCA positivos versus con ANCA negativos después de recibir tratamiento antifímico. Las diferencias fueron estadísticamente significativas $p= 0.001$ .....	<b>67</b>

## **RESUMEN**

**Jorge Antonio Esquivel Valerio**

**Fecha de Graduación: Julio, 2007**

**Universidad Autónoma de Nuevo León**

**Facultad de Medicina**

### **Título del Estudio: DETERMINACION DE ANTICUERPOS ANTI-CITOPLASMA DE NEUTROFILOS EN PACIENTES CON TUBERCULOSIS**

**Número de páginas: 103**

**Candidato para el grado de Doctor**

**en Medicina con especialidad en**

**Reumatología**

**Área de Estudio: Ciencias de la Salud**

#### **Propósito y Método del Estudio:**

Objetivo: Determinar la presencia de anticuerpos anti-citoplasma de neutrofilos (ANCA) en pacientes con tuberculosis pulmonar activa antes y después del tratamiento antifímico.

Material y métodos: Estudio prospectivo que incluyó 68 sueros de pacientes de la Consulta de Neumología del Hospital Universitario "Dr. José Eleuterio González" con diagnóstico de tuberculosis pulmonar activa confirmada por cultivos antes de tratamiento antifímico. Se obtuvo una segunda muestra de suero en 52 de estos pacientes después de recibir tratamiento. Se determinó ANCA, anticuerpos anti-proteinasa 3 (PR3-ANCA) y anticuerpos anti-mieloperoxidasa (MPO-ANCA) y a los sueros ANCA positivos se investigó la presencia de anticuerpos contra la proteína bactericida inductora de la permeabilidad bacteriana (BPI-ANCA). Resultados: Se encontraron ANCA en 3/68 (4.41%) pacientes con tuberculosis antes de tratamiento antifímico, 1 C-ANCA y 2 P-ANCA y en 15/52 (28.84%) después de éste, 3 C-ANCA y 12 P-ANCA. Todos los sueros ANCA positivos antes de la terapia antifímica fueron BPI-ANCA positivos y en 73% de los sueros después del tratamiento

#### **Contribuciones y Conclusiones:**

El tratamiento antifímico modifica la prevalencia de ANCA por IFI en pacientes con tuberculosis pulmonar. El blanco principal de los ANCA en tuberculosis pulmonar BPI.

**FIRMA DEL ASESOR:** \_\_\_\_\_

## **CAPÍTULO 1**

### **Introducción:**

La tuberculosis es una infección granulomatosa crónica, la cual ha resurgido recientemente y afecta de manera particular ciertas poblaciones de pacientes en especial pacientes inmunocomprometidos, pacientes con VIH, y aquellos pacientes con condiciones socioeconómicas de pobreza. La infección por *M. tuberculosis* afecta un tercio de la población mundial, y en 1996 ocurrieron más de un millón de casos de tuberculosis (1).

En los Estados Unidos de Norteamérica la tuberculosis mostró una declinación progresiva en su incidencia hasta 1984, sin embargo, de 1985 a 1992 se incrementó hasta alcanzar 10.5 casos reportados/100,000 habitantes (1). Después de 1992, los reportes de casos fueron disminuyendo hasta alcanzar en 1997 la cifra de 7.4 casos/100,000 (1). El porcentaje de pacientes infectados con tuberculosis y el virus de la inmunodeficiencia humana (VIH) en la población de 25 a 44 años de los Estados Unidos en 1997 fue desde 0% en los estados de Dakota del Norte y Dakota del Sur, hasta un 48% en el estado de Florida (1).

En México, los datos de 1995 reportan una incidencia de 45 casos por 100,000 habitantes / año y datos de 1999 revelan una mortalidad de 3.3 por 100,000 hab. (2)(3).

La respuesta inmunológica inicial a la infección por tuberculosis consiste de edema, vasodilatación, exudado fibrinoide y migración de leucocitos principalmente neutrófilos. En los pulmones, los linfocitos migran a los sitios de inflamación atraídos por las citocinas de los macrófagos alveolares. Los neutrófilos podrían jugar un papel en la fagocitosis de bacterias libres al inhibir su crecimiento a través de mecanismos no oxidativos (4-7), ya que se ha detectado una elevada expresión de TNF-R55 (receptor del factor de necrosis tumoral alfa), CD66( marcador de degranulación) y Fc gamma RIIB (receptor IIIB de la porción Fc de la inmunoglobulina G o IgG) en los polimorfonucleares de pacientes con tuberculosis (5). También se ha documentado en los neutrófilos de los pacientes con tuberculosis un incremento en la producción del factor de necrosis tumoral alfa (TNF-alfa), de la interleucina I beta (IL-1 beta), de citotoxicidad y de la liberación de aniones superóxido estimulada por la N-formil-metionil-leucil-fenilalanina (FMLP) (5), por lo que estos datos de activación de los neutrófilos fuera del foco de infección sugieren fuertemente la posibilidad de una inflamación sistémica (5).

La habilidad del huésped para controlar la infección por *M. tuberculosis* reside en su capacidad para montar una respuesta inmune celular efectiva, y la especificidad de esta respuesta depende de los linfocitos T(4). También se piensa que los macrófagos activados durante este proceso son capaces de contener o eliminar a las micobacterias (4). Las infecciones por micobacterias también estimulan la respuesta inmune humoral, pero las inmunoglobulinas producidas parecen tener un poco o ningún papel en la inmunidad contra las



micobacterias. En cambio ya se ha establecido el papel de la respuesta inmune celular y la formación del granuloma pero poco se conoce de la función de los granulocitos y del papel de ciertos auto-anticuerpos que se forman en el transcurso de la infección fímica entre ellos los anticuerpos anti-citoplasma de neutrófilos (4, 8). Estos últimos (ANCA: por sus siglas en inglés: Antineutrophil cytoplasmic antibodies) (9, 10), son auto-anticuerpos dirigidos contra los componentes de los gránulos presentes en los neutrófilos y monocitos.

El reconocimiento de los anticuerpos contra neutrófilos fue descrito en 1980 e inicialmente se conocían bajo el término de anticuerpos o factores antinucleares específicos de granulocitos (35). El estudio inicial que despertó interés por su relación con la presencia de glomerulonefritis se publicó en 1982 (36). Sin embargo, fue hasta 1985 que se describió la detección de autoanticuerpos IgG contra los componentes extra-nucleares de granulocitos polimorfonucleares en 25 de 27 muestras de suero de pacientes con granulomatosis de Wegener activa y solamente en 4 de 32 muestras de suero de pacientes con la enfermedad inactiva. Estos autoanticuerpos mostraron ser específicos y sus títulos correlacionaron con los resultados de una prueba *in vitro* de fagocitosis por granulocitos, en la cual los anticuerpos IgG 7S fueron internalizados después de su unión específica a la célula, resultando en una formación gradual de estructuras citoplásmicas con forma de “anillo” (10). A partir de esta publicación se reconoció la utilidad de los ANCA en el diagnóstico de la granulomatosis de Wegener y se incrementó el interés por su estudio (8).

Los ANCA han sido importantes también en las nuevas clasificaciones de vasculitis (37) (38) (39).

Pueden ser identificados por medio de inmunofluorescencia indirecta (IFI) a partir de la incubación del suero del sujeto en estudio con neutrófilos obtenidos de donadores sanos fijados en etanol, evidenciando los eventuales anticuerpos con un segundo anticuerpo conjugado con fluoresceína (8). La positividad se establece al observar principalmente dos patrones de inmunofluorescencia, el primero es un patrón citoplasmático llamado C-ANCA, que característicamente produce un patrón granular disperso en el citoplasma de los neutrófilos y una acentuación sobre el núcleo multilobulado de estas células. El segundo patrón, llamado P-ANCA, el cual se observa como fluorescencia que rodea y delimita el núcleo de los neutrófilos y que puede extenderse sobre el mismo y cubrirlo; este patrón de tinción es resultado de un artefacto producido por la fijación de los neutrófilos con etanol, ya que si los polimorfonucleares se fijan con formaldehído, la fluorescencia que se obtiene es citoplásmica. La explicación de este fenómeno radica en la redistribución de ciertos antígenos catiónicos ( vgr., mieloperoxidasa) hacia el núcleo cuando se usa etanol como fijador, la permeabilidad de la membrana de los gránulos que contienen dichas proteínas catiónicas se afecta al usar etanol, por lo que los antígenos difunden en dirección al núcleo de los neutrófilos.

Los ANCA han sido de utilidad como apoyo diagnóstico en el caso de la granulomatosis de Wegener, un padecimiento de origen autoinmune.

La granulomatosis de Wegener, (11,12) es una vasculitis que comparte muchas características histológicas con la tuberculosis, entre ellas el desarrollo de lesiones típicas vasculíticas con granulomas hasta una inflamación crónica no específica (4). Clínica y radiológicamente las lesiones en ambas entidades pueden ser idénticas y se ha observado una asociación con anticuerpos anti-citoplasma de neutrófilos (3, 11, 12, 13-15).

Por otra parte, en pacientes con tuberculosis se ha descrito la presencia de vasculitis en los cortes histológicos (16) y es bien conocido que la tuberculosis se asocia, en algunas ocasiones, con la presencia de lesiones cutáneas de eritema nodoso, al igual que ocurre en la granulomatosis de Wegener y otras vasculitis asociadas a ANCA.

La determinación, o la cuantificación de los ANCA es actualmente una herramienta de laboratorio muy importante en la práctica clínica, debido a lo siguiente:

a) La determinación de ANCA tiene utilidad en el diagnóstico de vasculitis sistémicas primarias de pequeños vasos sanguíneos, principalmente en la granulomatosis de Wegener, la Poliangiítis microscópica y en una forma de vasculitis limitada al riñón que es la glomerulonefritis necrotizante segmentaria pauci-inmune (17). En el caso del síndrome de Churg-Strauss (el cual se sospecha ante un paciente que cursa con vasculitis, asma y eosinofilia) los ANCA también han sido de utilidad como

herramienta de apoyo diagnóstico. Hagen y cols (1998) reportaron una sensibilidad de los ANCA para la granulomatosis de Wegener de 64% para C-ANCA; 21% para P-ANCA; 21% para PR3-ANCA (anticuerpos anti-citoplasma de neutrófilos con actividad contra la proteinasa 3) y 24% para MPO-ANCA (anticuerpos anti-citoplasma de neutrófilos con actividad contra la mieloperoxidasa). Para poliangiítis microscópica la sensibilidad es C-ANCA 23%, P-ANCA 58%, PR3-ANCA 26%, MPO-ANCA 58%. En la glomerulonefritis necrotizante segmentaria pauci-inmune se describe una sensibilidad de 36% para C-ANCA, 45% para P-ANCA, 50% para PR3-ANCA y 64% para MPO-ANCA. La especificidad de los ANCA para las vasculitis primarias de pequeños vasos es C-ANCA 95%, P-ANCA 81%, PR3-ANCA 87% y MPO-ANCA 91%. Actualmente se prefiere utilizar el ELISA de captura para la determinación de PR3-ANCA, esta técnica utiliza un anticuerpo monoclonal PR3-ANCA y posee mayor especificidad en el diagnóstico de vasculitis (18-20).

Se resume la sensibilidad y especificidad clínica de los ANCA y algunos antígenos específicos en relación a la granulomatosis de Wegener en la tabla 1 (21,22).

La especificidad mejora hasta 99% cuando se combinan los resultados de la determinación de ANCA por inmunofluorescencia indirecta con los obtenidos por la técnica de ELISA, por ejemplo: C-ANCA y PR3-ANCA positivos para la granulomatosis de Wegener ó P-ANCA más MPO-ANCA

positivos para poliangiítis microscópica, síndrome de Churg-Strauss (22). Sin embargo, la determinación de ANCA no deberá ser usada como una prueba de escrutinio sino como una herramienta diagnóstica complementaria a la historia clínica. En este sentido Rao y cols., describen que los C-ANCA tienen un valor predictivo positivo de 50% y valor predictivo negativo de 90% (21). En un meta-análisis calcularon la sensibilidad de C-ANCA para todas las formas de granulomatosis de Wegener encontrando valores que van desde 34% hasta 92% y la especificidad de 88 a 100% y concluyeron que existe una sensibilidad global de 66% (95% CI, 57% hasta 74%), y una especificidad global de 98% (CI, 96% a 99.5%) (23).

b) Hay evidencia acerca de que los ANCA desempeñan un papel en la patogenia de algunas vasculitis (8, 24) (25)(26). Se piensa que los ANCA contribuyen a la patogénesis de las vasculitis de pequeños vasos activando monocitos y neutrófilos previamente estimulados por citocinas, los cuales expresan los antígenos proteinasa 3 (PR3). y mieloperoxidasa (MPO) en su superficie (27-29). Es conocido que la estimulación con ANCA, especialmente de aquellos neutrófilos preactivados por ciertas condiciones (por ejemplo infecciones), los puede hacer más susceptibles de presentar antígenos a sus correspondientes anticuerpos (8, 29). Los neutrófilos en el proceso de activación, a) aumentan la expresión de moléculas de adhesión que favorecen su interacción con las células endoteliales activadas por citocinas, lo cual favorece la proximidad de

estas células. Se estimula la síntesis de metabolitos activos del oxígeno, los cuales tienen un potencial degradativo significativo, y se libera el contenido proteolítico de sus gránulos sobre las células adyacentes, causando daño tisular. También se sintetizan citocinas pro-inflamatorias, que contribuyen a perpetuar los eventos asociados a la inflamación (24). Adicionalmente se sabe que para que la activación de polimorfonucleares ocurra, es muy probable que los neutrófilos deban encontrarse fijados a ciertas superficies endoteliales. Los ANCA parecen participar directamente en este fenómeno, promoviendo la expresión de integrinas en la superficie de los polimorfonucleares (8, 30). El empleo de anticuerpos monoclonales dirigidos contra CD18 que bloquean la adherencia de neutrófilos al endotelio impide la activación de los polimorfonucleares, ya sea espontáneamente o bajo el efecto de los ANCA (8, 31). Existe evidencia *in vitro* de que la opsonización de polimorfonucleares (PMN) apoptóticos por PR3-ANCA incrementa sustancialmente la fagocitosis por los macrófagos y por consiguiente dispara la producción de TNF-alfa y tromboxano B2 (TxB2). Estos mediadores pro-inflamatorios, principalmente el TNF-alfa, podría llevar a los PMN a perpetuar el proceso inflamatorio (32). Se sugiere que este es uno de los mecanismos de daño tisular por ANCA en la granulomatosis de Wegener (32, 33).

c) La medición de los títulos de ANCA tiene valor en el seguimiento clínico de la actividad de la granulomatosis de Wegener encontrándose los títulos más elevados en pacientes activos con la forma generalizada de

esta vasculitis; mientras que la disminución de su título o desaparición de los mismos, ocurre cuando la granulomatosis de Wegener se encuentra en remisión. Usualmente la mayoría de los pacientes con granulomatosis de Wegener generalizada y activa tienen C-ANCA específicos contra la proteinasa 3, pero hasta 25% tienen P-ANCA con especificidad contra mieloperoxidasa (17, 34). Aproximadamente un 75% (20% al 100%) de pacientes con granulomatosis de Wegener que experimentan una recaída, cursan con elevación de los títulos de ANCA por IFI y un 50% (25%-81%) de los pacientes cursan con elevación de los títulos de PR3-ANCA por el método de ELISA y es poco frecuente encontrar resultados negativos de ANCA en pacientes en recaída de la granulomatosis de Wegener (17, 18, 34).

Antes de la introducción del método de ELISA para la determinación de la especificidad antigénica, el hallazgo de P-ANCA obligaba a su repetición con neutrófilos fijados en formaldehído para distinguir entre P-ANCA y anticuerpos anti-nucleares.

En algunos casos los patrones típicos pueden estar ausentes; así, el patrón citoplásmico puede observarse como una inmunofluorescencia homogénea a lo cual se denomina “C-ANCA atípico” o bien encontrarse inmunofluorescencia tanto en el citoplasma como en el núcleo y entonces el patrón de inmunofluorescencia recibe el nombre de “ANCA-atípico” o X-ANCA.

Los anticuerpos más comunes e importantes detectados por el método de ELISA poseen especificidades contra antígenos localizados en el citoplasma de neutrófilos, principalmente contra una proteinasa-serina de 29-kDA llamada proteinasa 3 y contra la mieloperoxidasa (9, 17, 28). Aproximadamente un 90% de los patrones de IFI C-ANCA dan reactividad contra la proteinasa-3 (PR-3) y un 70% de los P-ANCA son por anticuerpos contra la mieloperoxidasa (MPO). Estos patrones se han descrito en varios tipos de vasculitis sistémicas, como la granulomatosis de Wegener, la poliangiítis microscópica y la granulomatosis de Churg-Strauss. Por consenso internacional se utiliza la nomenclatura PR3-ANCA, MPO-ANCA, para el reporte de anticuerpos contra la proteinasa 3 y mieloperoxidasa detectados por el método de ELISA (17).

También se han descrito otros antígenos que son blanco de los P-ANCA y X-ANCA como: enolasa, catepsina G, elastasa, lactoferrina, h-lamp (del inglés: human-lysosomal associated membrane protein), HG1 y HG2 ( high mobility group non-histone chromosomal proteins), actina, lisozima, defensina y contra la BPI ( del inglés: bactericidal/permeability-increasing protein) (40). La BPI es un antígeno constituyente de los gránulos primarios de los neutrófilos y es un potente antibiótico natural contra bacterias Gram negativas principalmente contra pseudomonas y es el blanco para algunos ANCA en ciertas vasculitis (40, 41). La BPI presenta gran afinidad por los lipopolisacáridos (LPS) de las bacterias Gram negativas y neutraliza la producción de citocinas liberadas por monocitos bajo estimulación de LPS. La BPI se ha reportado que protege el endotelio de su activación y daño (42).



En otras enfermedades médicas como la colitis ulcerativa crónica inespecífica (43-46), la enfermedad de Crohn (47), linfoma de Hodgkin, gammopatías monoclonales, mieloma IgA (48), crioglobulinemias mixtas (49-51) se han descrito ANCA con patrones de inmunofluorescencia atípicos o P-ANCA de relevancia clínica incierta.

En algunas enfermedades infecciosas también se han descrito ANCA con patrones atípicos o P-ANCA usualmente contra enolasa, catepsina G, elastasa, lactoferrina, h-lamp, proteínas HG1 y HG2, actina, lisozima, defensina y BPI pero raramente contra la mieloperoxidasa y excepcionalmente contra la proteinasa-3 (52, 53). Existen reportes aislados de su presencia en enfermedades infecciosas como lepra (54)(55), oncocercosis, amibiasis invasiva (56), endocarditis infecciosa (56, 57), paludismo (58, 59), neumonías atípicas (60, 61), hepatitis C (49, 51), glomerulonefritis postestreptocócica (62), leptospirosis (63), blastomycosis (64), cromomycosis (65) y en la enfermedad causada por el virus de la inmunodeficiencia humana (VIH) (66, 67).

En el caso de los pacientes con VIH sintomáticos se reportó la presencia de ANCA positivos en 54% contra el 4 % en pacientes con VIH asintomáticos ( $p=0.0001$ ) y se encontró una correlación de 96% entre la positividad de los ANCA e infección pulmonar. Cuando se compararon los grupos con VIH y tuberculosis versus infección viral sin tuberculosis la correlación de los ANCA fue a favor del primer grupo ( $p=0.001$ ) (67). En este artículo no parece haber relación con

infecciones virales, toxoplasmosis, datos neurológicos de SIDA, vasculitis o enfermedades malignas y se sugiere que la tuberculosis principalmente pulmonar más que el retrovirus pudo ser el factor relacionado a la generación de ANCA.

Recientemente se ha descrito que en algunas Uveitis con P-ANCA positivos las histonas H1(69-171) y proteínas de micobacterias HupB son blancos antigénicos de P-ANCA y la alta correlación entre la reactividad contra las histonas H1 y las proteínas HupB sugiere un epítopo compartido entre los blancos antigénicos en pacientes con este tipo de Uveitis (68).

Notablemente los ANCA detectados en los casos de infecciones dan un patrón P-ANCA o atípico en la de inmunofluorescencia y están constituidos por anticuerpos contra otros antígenos diferentes de la proteinasa 3 o a la mieloperoxidasa, a títulos bajos y su significado clínico aún es incierto (17).

En el caso de la asociación de ANCA y tuberculosis, la infiltración del parénquima pulmonar por polimorfonucleares, la presencia de linfocitos T reactivos a las proteínas de choque térmico (Hsp), un importante blanco de la respuesta inmune contra ciertos auto-antígenos intracelulares como la MPO de los polimorfonucleares, junto con un mecanismo de mimetismo molecular podría explicar la generación de ANCA (67).

La asociación de ANCA en tuberculosis ha sido recientemente descrita; sin embargo, los reportes a la fecha son anecdóticos y controversiales (3, 69-72).

Sólo existe un estudio de prevalencia de ANCA en pacientes mexicanos con tuberculosis que reporta una prevalencia de 44% de ANCA por inmunofluorescencia y de 40% por ELISA (33% de PR-3 ANCA y 7% MPO-ANCA) (3).

Pradha y cols encontró ANCA por IFI en el 30% de 70 pacientes con tuberculosis pulmonar, 52.4% con patrón P-ANCA, 38.1% C-ANCA y 9.5% X-ANCA (72).

Recientemente, Teixeira y cols.(70), reportaron los resultados de la determinación de ANCA en el suero de 66 pacientes con tuberculosis comprobada por cultivos y en 10 controles sin tuberculosis ( 4 con granulomatosis de Wegener, 2 con poliangiítis microscópica y 4 negativos conocidos a ANCA) y a diferencia del reporte de Flores-Suárez y cols, ellos detectaron ANCA por IFI solo en el 10% de los pacientes fímicos; de los 7 pacientes con ANCA, 3 tuvieron C-ANCA y 4 P-ANCA atípico. Todos los pacientes con ANCA detectados por la prueba de ELISA fueron igualmente detectados en la prueba de inmunofluorescencia con excepción de un suero que mostró un patrón negativo de ANCA por IFI y presentó PR3-ANCA positivos por ELISA. No se encontró ningún suero de pacientes con tuberculosis que tuviera la combinación de C-ANCA más PR3-ANCA.

Estos reportes controversiales generan el interés por un estudio prospectivo en una población más uniforme con tuberculosis pulmonar que permita analizar el

papel de diversos factores entre ellos: clínicos, comorbilidades asociadas, aspectos radiográficos, influencia del inicio del tratamiento antifímico, presencia de baciloscopías en esputo con la presencia de los ANCA. Otros aspectos no estudiados hasta ahora es la relación de estos auto-anticuerpos con reactantes de fase aguda como la proteína C reactiva la cual es un marcador de procesos inflamatorios.

En los pacientes con infección pulmonar por tuberculosis y tratamiento antifímico, el número de bacterias se reduce substancialmente a partir de la segunda semana, cuando hay adecuada respuesta a las drogas antifímicas (1). Un reporte reciente de un hospital de New York señala que en 100 pacientes con tuberculosis pulmonar y baciloscopías positivas, el promedio de días que tardaron en obtener un resultado negativo en la primera serie de 3 baciloscopías fue de 33 días, con una mediana de 23 (73), datos que son importantes de tomar en cuenta al momento en que se asume que la enfermedad se encuentra inactiva.

### **1.1. Importancia de la determinación de ANCA:**

La alta prevalencia de ANCA reportada en pacientes con TB es importante por la similitud de las características clínicas y radiológicas de esta entidad con la granulomatosis de Wegener, lo cual podría causar confusión en el diagnóstico y modificaría el tratamiento y pronóstico de estos pacientes. Por lo tanto, es relevante extender las observaciones clínicas, y su asociación con la frecuencia y el patrón de ANCA en pacientes con tuberculosis.

### **1.2. Originalidad:**

En pacientes fímicos, se extendieron las observaciones clínicas de estos pacientes y su relación con la presencia de ANCA antes y después del tratamiento antifímico.

### **1.3. Justificación:**

La identificación de ANCA, en especial C-ANCA en pacientes fímicos de la población mexicana es de importancia ya que inicialmente se pensaba que éstos eran altamente específicos de vasculitis de Wegener (21, 21, 23, 74), y estas vasculitis comparten semejanzas con la tuberculosis, por lo que es importante detallar su asociación y su correlación con la actividad clínica de la tuberculosis, una enfermedad frecuente en México y cuyas manifestaciones autoinmunes asociadas no se ha explicado totalmente.

## **CAPÍTULO 2**

### **HIPÓTESIS**

Los anticuerpos anti-citoplasma de neutrófilos ocurren en pacientes con tuberculosis pulmonar con diferente prevalencia antes que después de iniciado el tratamiento antifímico.

## **CAPÍTULO 3**

### **OBJETIVOS**

#### *3.1 Objetivo general:*

Determinar la presencia de anticuerpos anti-citoplasma de neutrófilos (ANCA) por IFI en el suero de pacientes con tuberculosis activa antes y después de iniciado el tratamiento antifímico.

#### *3.2 Objetivos específicos:*

3.2.1 Determinar la frecuencia de ANCA en pacientes con tuberculosis

3.2.2 Determinar si la presencia de ANCA, PR-3-ANCA y MPO-ANCA en pacientes con tuberculosis está asociado al tratamiento con antifímicos.

3.2.3 Buscar si existe asociación con la presencia de algún fenómeno clínico autoinmune como eritema nodoso, vasculítis y artritis con ANCA por IFI y ELISA.

3.2.4 Buscar si existe relación de ANCA con la presencia o ausencia de micobacterias en las baciloscopías de las secreciones pulmonares,

3.2.5 Buscar asociación de ANCA por IFI con los niveles séricos de proteína C reactiva.

3.2.6 Determinar la frecuencia de BPI-ANCA por ELISA en las poblaciones en estudio con ANCA por IFI positivos.

## CAPÍTULO 4

### PACIENTES Y MÉTODOS

#### 4.1: Sujetos:

##### CRITERIOS DE INCLUSION:

- a) Pacientes mayores de 18 años que firmaron el consentimiento informado elaborado para este proyecto.
- b) Pacientes con tuberculosis pulmonar activa que acudieron al Hospital Universitario u otros centros médicos de Septiembre del 2004 a Noviembre del 2005 con cultivos positivos para *M. tuberculosis*.

##### CRITERIOS DE EXCLUSION.

- a) Pacientes que no desearon que se les tome una muestra de sangre.
- b) Pacientes sin diagnóstico confirmado de tuberculosis.
- c) Menores de 18 años
- d) Mujeres embarazadas
- e) Pacientes con conocida positividad para VIH
- d) Pacientes con ingesta de medicamentos conocidos causantes de lupus-like como procainamida, hidralazina, fenitoína, propiltiouracilo, D-penicilamina, alopurinol.
- d) Pacientes en quimioterapia para cualquier tipo de cáncer, y/o uso de drogas inmunosupresoras.
- e) Colitis ulcerativa crónica inespecífica y enfermedad de Crohn.



## CRITERIOS DE ELIMINACIÓN.

- a) Pacientes a quienes durante el seguimiento se les detectó infección por VIH. A ellos se les hizo en forma exploratoria la determinación de ANCA por IFI, MPO-ANCA y PR3-ANCA para calcular la frecuencia de ANCA, pero no se incluyeron estos pacientes para la comparación con el grupo de pacientes sin VIH que tuvieron una segunda muestra de suero.

### 4.2: Métodos:

A todos los pacientes con tuberculosis que se incluyeron en este estudio, se les hizo una historia clínica por el médico reumatólogo, se recolectaron datos demográficos, como edad, sexo, además se documentó la presencia de baciloscopías en esputo, antecedente de vacunación con BCG, COMBE, tiempo de evolución de los síntomas, tiempos desde el inicio de los síntomas a la primera toma de suero, enfermedades concomitantes, síntomas reumáticos o manifestaciones clínicas de autoinmunidad.

Se compararon los datos obtenidos, tanto clínicos como de laboratorio, entre aquellos pacientes con tuberculosis confirmada en los que se obtuvo al menos una segunda muestra de sangre.

Para el reporte de baciloscopías de esputo o secreciones bronquiales se utilizó la Clasificación de la OMS y los resultados se reportaron en una escala del 0

a 4 cruces. Se tomo para el análisis de datos la presencia o ausencia de micobacterias en las secreciones bronquiales.

#### 4.3: Toma y procesamiento de muestras:

A los pacientes con tuberculosis se les tomaron en total dos muestras sanguíneas, una de ellas antes de iniciar el tratamiento antifímico y la segunda muestra después de haber iniciado el tratamiento antifímico para la determinación de ANCA y proteína C reactiva. Se eligieron a aquellos pacientes con sospecha de tuberculosis pulmonar, y se les tomó una muestra sanguínea inicial antes de recibir tratamiento antifímico. Una vez que se confirmó el diagnóstico de tuberculosis y que se inició tratamiento antifímico por el Servicio de Neumología del Hospital Universitario se siguió a los pacientes y durante su visita subsiguiente se tomó una segunda muestra de suero a los que consintieron en ello.

A los pacientes perdidos en el seguimiento y donde no se pudo tomar una segunda muestra de suero se les hizo la determinación de ANCA por IFI, MPO-ANCA y PR3-ANCA en el suero disponible de primera vez para calcular la frecuencia de estos autoanticuerpos.

Aquellos pacientes en los que el cultivo fue negativo para tuberculosis y en los que se detectaron otros padecimientos granulomatosos (coccidiomicosis) o bien tuberculosis por micobacterias atípicas se guardaron sus muestras de

sangre para explorar la presencia de ANCA por IFI, PR3-ANCA y MPO-ANCA pero no se incluyeron en el análisis estadístico.

Hubo tres sueros previamente conocidos ser PR3 ANCA que se tomaron como controles positivos internos para PR3-ANCA por ELISA en nuestro ensayo.

Obtuvimos como controles de nuestra prueba 39 sueros de sujetos clínicamente sanos, 19 tenían un PPD positivo y 20 tenían PPD negativo a los cuales se les efectuó determinación de ANCA por IFI, PR3 ANCA y MPO-ANCA.

Todas las muestras sanguíneas se dejaron coagular, posteriormente se centrifugaron con una centrífuga Beckman modelo Allegra 21R (Beckman Coulter, Inc) a 3000 rpm por 15 minutos y se separó el suero. Los sueros se congelaron a  $-70^{\circ}\text{C}$  en un congelador Vertical REVCO modelo ULT2586-3-A36 (Kendro Laboratory Products, Asheville, NC) hasta que se procesaron para la búsqueda de los anticuerpos de interés. Se determinó la presencia de anticuerpos anti-citoplasma de neutrófilos por inmunofluorescencia indirecta, y por el método diagnóstico de ELISA se determinó la presencia de anticuerpos anti-mieloperoxidasa (MPO-ANCA), y anti-proteinasa-3 (PR3-ANCA). Todos los pacientes que mostraron patrón P-ANCA en neutrófilos fijados en etanol se confirmaron en sustrato de neutrófilos fijados en formalina y anticuerpos antinucleares en sustrato de células Hep-2.

A todos aquellos pacientes que mostraron algún tipo de inmunofluorescencia en neutrófilos fijados en etanol se les determinó BPI-ANCA.

Todas las determinaciones se hicieron por duplicado.

#### 4.4 Detalle de los métodos diagnósticos inmunológicos de laboratorio empleados:

Se emplearon reactivos comerciales para la determinación de estos anticuerpos respetando la metodología recomendada por el fabricante.

- La técnica de Inmunofluorescencia indirecta se realizó con las laminillas adquiridas comercialmente con neutrófilos fijados en etanol y neutrófilos fijados en formaldehído (*Immunoconcepts, Cal, EUA*).

Procedimiento (figura 1):

1. Se agregó 0.05 ml de los controles y muestras pre-diluidas 1:20 por duplicado en cada pocillo.
2. Se incubó a temperatura ambiente (20-28°C) por 30 min. , en cámara húmeda.
3. Se lavó con PBS, siempre evitando el chorro directo.
4. Se eliminó el exceso de líquido y se agregó 1 gota de IgG marcada con conjugado de FITC a cada pozo.
5. Se incubó a temperatura ambiente (20 - 28°C) por 15 min., en cámara húmeda.
6. Se lavó nuevamente con PBS evitando el chorro directo.

7. Se secó por los bordes cada pozo y posteriormente se agregó una gota de solución fijadora colocando un cubreobjetos sobre ésta evitando en lo posible, la formación de burbujas.
8. Se observó los ANCA con el microscopio de fluorescencia de la marca Zeiss.

La interpretación de resultados se realizó de acuerdo a las estipulaciones del fabricante, considerando positivo la dilución 1:20.

- Para realizar la prueba de ELISA se utilizaron los estuches comerciales para PR3-ANCA y MPO-ANCA de la marca *Wieslab, Lund, Suecia* con números de catálogo PR3-ANCA102X / MPO-ANCA 103X. Para su lectura se utilizó el DSX™ ELISA (Processing Automated System) de Dynex Technologies.

El procedimiento para PR3-ANCA, se efectuó siguiendo las indicaciones del fabricante, sin modificaciones a la técnica estandarizada, y se describe brevemente a continuación:

- 1.- Se incubaron a temperatura ambiente, los sueros (por 30 minutos), el conjugado (por 30 minutos) y el sustrato (60 minutos).
- 2.- Se diluyeron 10 ml de la solución de lavado concentrada a 30x, en 290 ml de agua destilada.
- 3.- Los sueros de cada paciente se diluyeron 1/80 (395 microlitros de diluyente y 5 microlitros de suero).

- 4.- Se agregaron los controles negativos y positivos, así como los calibradores y los sueros.
- 5.- Se lavó 3 veces con 300 microlitros de solución de lavado, después del último lavado se dejaron vacíos los pozos, eliminando el excedente con toalla absorbente.
- 6.- Se agregó 100 microlitros de conjugado a cada pozo, y se incubó durante 30 minutos y después se lavó.
- 7.- Se agregó 100 microlitros del sustrato pNPP a cada pozo y se incubó por 60 minutos.
- 8.- Se midió la una absorbancia a 405 nm.

Se realizaron los cálculos señalados en las instrucciones del fabricante, para de esta forma, interpretar los resultados, como sigue:

≥ 15 unidades: Positivo.

Para la detección de MPO–ANCA, se realizó la técnica estandarizada por el fabricante, sin efectuar modificaciones. El procedimiento se describe a continuación:

- 1.- Se incubaron a temperatura ambiente, los sueros (por 30 minutos), el conjugado (por 30 minutos) y el sustrato (60 minutos).
- 2.- Se diluyeron 10 ml de la solución de lavado concentrada a 30x, en 290 ml de agua destilada.
- 3.- Los sueros de cada paciente se diluyeron 1/80 (395 microlitros de diluyente y 5 microlitros de suero).

4.- Se agregaron los controles negativos y positivos, así como los calibradores y los sueros.

5.- Se lavó 3 veces con 300 microlitros de solución de lavado, después del último lavado se dejarán vacíos los pozos, eliminando el excedente con toalla absorbente.

6.- Se agregaron 100 microlitros de conjugado a cada pozo, y se incubó durante 30 minutos y después se lavó.

7.- Se disolvió una tableta de sustrato en 5 ml de solución amortiguadora (esto es suficiente para 6 tirillas).

8.- Se lavó.

9.- Se agregaron 100 microlitros de la solución sustrato a cada pozo, se incubó por 60 minutos.

10.- Se leyó a una absorbancia de 405 nm.

Se realizaron los cálculos señalados en las instrucciones del fabricante, para de esta forma, interpretar los resultados, como sigue:

$\geq 15$  unidades: Positivo.

- La determinación de BPI-ANCA fue con el estuche BPI-ANCA 523 de *Orgentec, Mainz, Alemania*, y se realizó de acuerdo a las instrucciones del fabricante, no realizando modificaciones a la técnica estandarizada para

este estuche comercial. Se leyó con el Lector de ELISA marca TECAN Modelo Sunrise-Touch Screen 960063.

Procedimiento (figura 2):

1. Se agregó 0.1 ml de los calibradores, controles y muestras pre-diluidas 1:100 por triplicado.
2. Se incubó a temperatura ambiente (20-28°C) por 30 min.
3. Se desechó el contenido de la placa y se lavó 3 veces.
4. Se agregó 0.1 ml de conjugado enzimático a cada pozo.
5. Se incubó a temperatura ambiente (20-28°C) por 15 min.
6. Se desechó el contenido de la placa y lavó 3 veces.
7. Se agregó 0.1 ml de TMB a cada pozo.
8. Se incubó a temperatura ambiente (20-28°C) por 15 min.
9. Se leyó a 450 nm.

Para interpretar adecuadamente la prueba, se realizaron los cálculos pertinentes, y se interpretaron de acuerdo al fabricante, como sigue:

El valor para considerar BPI-ANCA POSITIVO  $\geq 10$  U.

La interpretación de los estudios se tomó en base a los resultados de curvas optimizadas contra controles y en relación a los valores (probados por el laboratorio fabricante) que ellos establecen. Se cuidó de no hacer cambios a los procedimientos recomendados por el fabricante de los estuches comerciales.

Para la determinación de la proteína C reactiva se eligió la ofrecida por *Randox Laboratories Ltd, Antrim, Gran Bretaña* con el número de catálogo CP3847. Se



leyó con el Espectofotómetro marca Beckman Modelo DU-6 de Beckman Instruments Inc.

Procedimiento (Figura 3):

1. Se pipeteó en tubos de ensayo con:
  - a. Amortiguador
  - b. Patrón 1-7
  - c. Control
  - d. Muestras
2. Se mezcló y leyó la absorbancia del A1 (amortiguador) a 540 nm
3. Se agregó 0.1 ml del reactivo de A2 (anticuerpo-látex).
4. Se mezcló y leyó la absorbancia de A2 a 540 nm al cabo de 1 min.
5. Se realizó el calculo  $A2-A1$  y se graficaron los resultados de la curva de referencia.
6. Se tomó como valor normal de proteína C reactiva 0-5 mg/L y valor positivo a aquellos valores  $> 5$  mg/L.

Como parte de un control interno de la técnica de IFI y ELISA se agregaron 39 sueros de pacientes control , 20 PPD negativo y 19 PPD positivos además de 3 sueros conocidos PR3-ANCA positivos a los cuales se les efectuó determinación de ANCA por IFI y PR3-ANCA y MPO-ANCA.

#### **4.5. Análisis estadístico:**

Tamaño de la muestra: La muestra se calculó para una frecuencia máxima de ANCA por IFI de 33% y un mínimo de 10% para encontrar una diferencia de 23%, se eligió un error alfa de 0.05 y un error beta de 0.80 lo cual resultó en una muestra con 32 pacientes en cada grupo y si se escogiera el mismo valor de alfa pero con un error beta de 0.90 sería de 58 pacientes.

Para las variables continuas se practicó estadística descriptiva reportándose los valores promedio y sus desviaciones estándar. Además se determinó si presentaban una distribución normal a través de la prueba de Kolmogorov Smirnov, posteriormente se realizó una prueba T de Student si presentaba distribución normal o una prueba de Wilcoxon-U-Mann-Whitney en caso contrario.

Para las variables no continuas o categóricas se eligió la estadística no paramétrica con prueba de Chi cuadrada, y tablas de contingencia 2x2 con la Prueba exacta de Fisher si la frecuencia en alguna de las celdas era menor de 5.

Se realizó un análisis multivariado de regresión logística con las variables que presentaban un valor de  $p \leq 0.1$  por lo que fueron incluidas: género, rayos X de tórax con infiltrado reticulonodular y proteína C reactiva. Se consideraron significativos los valores  $< 0.05$ .

#### **4.6 Aspectos Éticos:**

El protocolo de estudio fue evaluado y aprobado por el Comité de Investigación y Ética de la Facultad de Medicina y del Hospital Universitario “Dr. José E. González”, de la Universidad Autónoma de Nuevo León.

#### **Personal profesional:**

Dr. Jorge A. Esquivel Valerio.

Enfermera del Servicio de Neumología

Personal Profesional del laboratorio del Servicio de Inmunología del Hospital Universitario.

Director de Tesis: Doctor en Ciencias Dr. Mario César Salinas Carmona

#### **4.7 RECURSOS MATERIALES.**

Instalaciones del Servicio de reumatología, del Servicio de inmunología y de la Clínica de tuberculosis del Servicio de neumología. Hospital Universitario “ Dr. José Eleuterio González” Universidad Autónoma de Nuevo León.

#### **4.8 FINANCIAMIENTO:**

Recursos propios del Servicio de Reumatología. Se obtuvo financiamiento adicional por el Programa de Apoyo a la Investigación Científica y Tecnológica (PAICYT 2006) por la cantidad de \$30,000.00 registrándose este proyecto con la clave SA1440-6.

## CAPÍTULO 5

### RESULTADOS

Se incluyeron 76 sueros de pacientes consecutivos de la Consulta de Neumología del Hospital Universitario “Dr. José Eleuterio González” que firmaron consentimiento informado y que presentaban síntomas sugestivos de tuberculosis pulmonar. De ellos solo 68 tuvieron baciloscopías de esputo o lavado bronquial y cultivo confirmado para *Mycobacterium tuberculosis*. Entre los que se excluyeron, tres tenían micobacterias atípicas, cuatro coccidioidomicosis, y uno cultivo negativo.

La Tabla 2 muestra las características demográficas y clínicas de los 68 pacientes con TB pulmonar.

En la tabla 3 se muestran los principales hallazgos radiográficos encontrados en la radiografía de tórax. Uno o más datos radiográficos pudieron coexistir en los pacientes con tuberculosis.

En la primera muestra de suero se detectó VIH en 5/68 suero (7.35%).

Tres pacientes tuvieron ANCA positivos por IFI al inicio (4.4%), de éstos uno fue C-ANCA y dos P-ANCA. Uno de género masculino y dos de sexo femenino respectivamente. La media en estos casos de MPO-ANCA fue 0.78 (DS 0.27) U/ml y de PR3-ANCA de 1.07 (DS 1.16) U/ml. Los BPI-ANCA fueron positivos

en estos 3 pacientes (100%) con una media 49.48 U/ml (DS 26.77). La media de Proteína C reactiva de estos 3 pacientes fue 4.91U/ml (DS 2.51).

Los MPO-ANCA y PR3-ANCA fueron negativos en los 68 sueros iniciales antes de iniciado el tratamiento antifímico con un valor medio absoluto de 1.48 U/ml (DS 1.01) y 1.09U/ml (DS 0.64) respectivamente.

Entre pacientes con ANCA positivos versus negativos en la primera toma de suero no hubo diferencia estadística en edad ( $p= 0.68$ ), el tiempo de inicio de los síntomas y la primera toma de suero ( $p= 0.78$ ).

A todos los pacientes que tuvieron diagnóstico de tuberculosis pulmonar se les inició terapia con isoniacida, rifampicina, pirazinamida y etambutol, y continuaron con el mismo esquema hasta la segunda toma de suero.

Después de recibir el tratamiento solo se obtuvo una segunda muestra en 52 de los 68 (76.47%) pacientes. A dos de estos 52 pacientes se les detectó la presencia del VIH (3.8%). A ninguno de los pacientes con VIH se les detectó ANCA por IFI, MPO-ANCA o PR3-ANCA antes o durante el tratamiento antifímico.

Las características demográficas y clínicas de estos 50 pacientes en los que se tuvo un segundo suero durante el tratamiento antifímico son las siguientes: 29 (58%) masculinos y 21 femeninos (42%). Edad media 40.72años (DS 15.07),

con una edad mínima de 18 años y una máxima de 68 años. El tiempo transcurrido entre el inicio de antifímicos y la segunda toma de suero fue de 106.0 días (DS 60.77).

Se presentaron datos de tabaquismo 14/50 (28%), diabetes 20/50 (40%), alcoholismo 14/50 (28%), drogadicción 7/50 (14%), uso de corticoesteroides 1/52 (2%), artralgias en 1 paciente (en éste los ANCA por IFI y ELISA fueron negativos), 38/50 (76%) tuvieron baciloscopías positivas (11 pacientes tuvieron reportes de una cruz, 6 con dos cruces, 15 con tres cruces y 6 tuvieron reporte de cuatro cruces).

En 38/50(76%) existió el antecedente de aplicación o la cicatriz de la vacuna de BCG. El antecedente de contacto con personas enfermas de tuberculosis (COMBE) se documentó en 15/50 (30%) de los pacientes.

Un cultivo positivo para tuberculosis con antibiograma mostró la presencia de multiresistencia en 5/50 (10%).

Dentro de los hallazgos radiográficos hubo uno o varios patrones, no encontrándose diferencias con respecto a la presencia o ausencia de ANCA.

Después de recibir tratamiento antifímico se detectaron ANCA por IFI en 15 de los 50 sueros (30%), tres con patrón de inmunofluorescencia C-ANCA y 12 P-ANCA. (Gráfica 1).

En la tabla 4 se muestra la comparación de las características clínicas de estos 50 pacientes con respecto a la variable ANCA presente o ausente durante el tratamiento antifímico.

No hubo correlación entre la presencia de ANCA y la edad, sexo, el tiempo de evolución de los síntomas, la duración del tratamiento antifímico, las baciloscopías, hallazgos radiográficos, enfermedades concomitantes ni farmacoterapia.

En la tabla 5 se resumen los datos bacteriológicos, radiográficos y de proteína C reactiva en los 50 pacientes con tuberculosis pulmonar de acuerdo a su patrón de ANCA por IFI durante el tratamiento antifímico.

La diferencia en la frecuencia de ANCA por IFI antes y después de tratamiento antifímico fue estadísticamente significativa ( $p= 0.003$ ).

Entre los pacientes negativos a ANCA cinco sueros mostraron un patrón de inmunofluorescencia atípica en neutrófilos fijados en etanol y se descartó que fueran ANCA verdaderos al ser probados en sustrato de neutrófilos fijados en formalina y células Hep-2 y finalmente se catalogaron como anticuerpos antinucleares: Dos tenían patrón nucleolar por inmunofluorescencia indirecta en células Hep-2, dos patrones homogéneos y uno con patrón centrómero.

La determinación de MPO-ANCA y PR3-ANCA fue negativa en los 52 sueros obtenidos en la segunda visita después de recibir los pacientes el tratamiento antifímico.

La media de BPI-ANCA fue de 23.17 U (DS 19.77) en los 15 sueros ANCA positivos de la segunda toma de suero, y se consideraron como positivos 11/15 (73%) sueros. De estos once pacientes con BPI-ANCA, 10 tenían patrón P-ANCA y 1 con patrón C-ANCA. La media de BPI-ANCA en estos 11 sueros fue de 30.50 (DS 17.98) U/ml.

Los BPI-ANCA por ELISA fueron realizados en los 5 sueros de segunda toma que presentaban algún tipo de inmunofluorescencia en neutrófilos fijados en etanol pero que fueron anticuerpos antinucleares positivos y en estos 5 casos los BPI-ANCA fueron negativos con una media de 4.16 U (DS 2.35). Esto fue significativo en comparación a la presencia de BPI-ANCA en pacientes con verdaderos ANCA por IFI ( $p= 0.016$ ).

El valor promedio de proteína C reactiva fue de 3.05 mg/L (DS 8.27) en la primera muestra comparado con 4.49 mg/L (DS 11.2) en la segunda muestra ( $p= 0.46$ ).

No se encontró una diferencia estadística entre la proporción de sueros de durante el tratamiento antifímico con proteína C reactiva positiva ( $\geq 5\text{mg/L}$ ) en pacientes con ANCA positivos cuando se comparo con los pacientes ANCA negativos,  $p= 0.152$  (Tabla 5). Sin embargo, al analizar los valores absolutos



de la segunda muestra de sueros de los pacientes se encontró una diferencia significativa entre éstos. Esta diferencia estadística correspondió a la media de valores de Proteína C reactiva entre los pacientes ANCA positivos y los negativos, encontrándose los valores mas altos en los primeros, quienes desarrollaron ANCA positivos medidos por IFI en su segunda muestra de suero ( $p=0.001$ ). (Gráfica 2)

Después de un análisis multivariado de regresión logística solo los valores absolutos séricos de proteína C reactiva mostraron tener significancia estadística ( $p= 0.028$ ).

## **CAPÍTULO 6**

### **DISCUSIÓN**

El tratamiento antifímico modifica la prevalencia de ANCA por IFI en pacientes con tuberculosis pulmonar y se encontró en este estudio prospectivo que los ANCA ocurren infrecuentemente antes de iniciar tratamiento antifímico (4.4%), pero se observan con mayor frecuencia en los pacientes con TB durante el tratamiento con antifímicos (28.84%). Los anticuerpos no eran dirigidos en contra proteinasa-3 ni de mieloperoxidasa, los cuales son los blancos antigénicos principales de la vasculítis de Wegener y de la poliangiitis microscópica.

Sólo existe un estudio de prevalencia de ANCA en pacientes mexicanos con tuberculosis que reporta una prevalencia de 44% de ANCA por inmunofluorescencia y de 40% por ELISA (33% de PR-3 ANCA y 7% MPO-ANCA) (3). Flores-Suárez y cols. (2003) buscaron ANCA en 45 pacientes con tuberculosis, 43 de ellos con afección pulmonar y de los dos restantes, uno tenía empiema primario y el otro tuberculosis osteomuscular. No encontraron ANCA, ni por IFI ni por ELISA, en los dos pacientes con afección extra-pulmonar, mientras que encontraron 20 pacientes con ANCA, por inmunofluorescencia. Dieciséis fueron C-ANCA y 4 P-ANCA. En dicho reporte 35 de los 45 pacientes estaban recibiendo antifímicos al momento de tomar la muestra de suero y ésta pudiera ser una explicación al hallazgo descrito por el

autor en relación a la elevada frecuencia de ANCA en pacientes con tuberculosis. En el estudio de Flores-Suárez y cols., el 86.6% de los pacientes tenían TB activa al momento de la toma de suero. Otra observación de este estudio es que sólo 7 de 45 (el 15.5%) tuvieron confirmación diagnóstica con el aislamiento en cultivos de la micobacteria.

Existen reportes que algunas drogas antifímicas pueden asociarse a la formación o producción de auto-anticuerpos entre ellos, los anticuerpos antinucleares, anticuerpos anticardiolipina (75, 76).

Nuestro estudio fue prospectivo, todos los pacientes tuvieron tuberculosis confirmada por el cultivo del bacilo, solo se incluyeron pacientes con tuberculosis pulmonar activa, los cuales recibieron el mismo tipo de tratamiento al momento de la segunda toma de suero.

Recientemente, Teixeira y cols.(2005) (70), reportaron los resultados de la determinación de ANCA en el suero de 66 pacientes con tuberculosis comprobada por cultivos y en 10 controles sin tuberculosis ( 4 con granulomatosis de Wegener, 2 con poliangiítis microscópica y 4 negativos conocidos a ANCA), ellos detectaron ANCA por IFI solo en el 10% de los pacientes fímicos; de los 7 pacientes con ANCA, 3 tuvieron C-ANCA y 4 P-ANCA atípico. Todos los pacientes con ANCA detectados por la prueba de ELISA fueron igualmente detectados en la prueba de inmunofluorescencia con excepción de un suero que mostró un patrón negativo de ANCA por IFI y

presentó PR3-ANCA positivos por ELISA. No encontró ningún suero de pacientes con tuberculosis que tuviera la combinación de C-ANCA más PR3-ANCA. Sin embargo, el reporte Teixeira y cols., aunque muy bien diseñado, muestra algunas diferencias en comparación con nuestro trabajo. Entre estas diferencias cabe señalar las siguientes: fue un estudio retrospectivo de los datos clínicos, los que fueron extraídos de los expedientes electrónicos y de ahí se escogieron los sueros congelados de los pacientes que tenían cultivos para *Mycobacterium tuberculosis* y a los que se les extrajo el suero  $\pm$  21 días del cultivo positivo. El 72% tenían afección pulmonar y 13 pacientes (19.40%) habían iniciado terapia antifúngica.

Estas diferencias entre los pacientes y sueros y además de diferencias determinadas por los diferentes reactivos de laboratorio utilizados, los diferentes estadios clínicos de tuberculosis, el grado de actividad o extensión de la tuberculosis, el uso de antifúngicos, las enfermedades concomitantes que cursen con inmunocompromiso podrían explicar la pequeña diferencia que existe en la frecuencia de ANCA de 10% versus el 4.41% de nuestro estudio.

Otras explicaciones para diferencias podrían ser el uso de otros medicamentos antifúngicos diferentes a los utilizados en nuestro estudio como la amikacina, ciprofloxacina, proteonamida, estreptomina, clofazimina, roxitromicina, claritromicina, cefalosporinas, kanamicina.

También pudo influir el tiempo al cual se tomó la muestra de suero y quizá también pudieran existir cierta predisposición genética a desarrollar anticuerpos anti-citoplasma de neutrófilos (77, 78) o predisposición adquirida en algunas poblaciones por infecciones microbianas o virales asociadas como lo señalan algunos estudios (79),

Los ANCA también han sido reportados en asociación con algunos medicamentos, principalmente con hidralazina (80), propiltiouracilo (81, 82) y menos frecuentemente con D-penicilamina (83, 84), sulfasalazina (83) y alopurinol (80, 85) pero hasta donde revisamos no se ha encontrado asociación con medicamentos antifímicos.

Aunque en este estudio existió una asociación entre la mayor frecuencia de ANCA por IFI y el tratamiento con antifímicos, no es posible concluir con este diseño de estudio que éstos medicamentos sean los agentes causales, tampoco se estableció cuál de los antifímicos utilizados muestra la mayor asociación con la presencia de ANCA. Para esto se requieren estudios adicionales cuyo diseño nos permita establecer el grado de asociación con cada uno de los medicamentos antifímicos.

La BPI (40) es un antígeno presente en los gránulos primarios de los neutrófilos y es el blanco para algunos ANCA en ciertas vasculítis (40, 41). Se ha reportado que protege el endotelio de su activación y daño (42).

Se ha descrito que BPI-ANCA ocurren en el 6% de las vasculitis asociadas a ANCA y en el 74% de diversas enfermedades infecciosas y se asocian con mayor actividad inflamatoria (86).

En nuestro estudio los BPI-ANCA son los anticuerpos mas frecuentemente observados y se encontraban presente en todos los sueros con ANCA positivos antes de iniciar tratamiento antifímico y en el 73% de los sueros ANCA positivos durante el tratamiento antifímico, por lo que podemos afirmar que BPI es el blanco antigénico más importante en pacientes con tuberculosis con frecuencia similar a la frecuencia reportada en otras infecciones (86).

Aunque no es parte de las conclusiones de este estudio, es posible especular basándose en los estudios previos que reportan una alta frecuencia de BPI-ANCA en pacientes con fibrosis quística y que su presencia se ha asociado con la predisposición a infecciones, y al mayor daño pulmonar (87, 88) que los BPI-ANCA también tengan un rol patogénico en pacientes con tuberculosis dentro del proceso inflamatorio pulmonar de manera similar como se ha descrito por Schultz H y cols (2003).

Hay escasos reportes acerca de la asociación entre proteína C reactiva y tuberculosis (89, 90). Se ha reportado, por ejemplo, que la proteína C reactiva es negativa en 13.3% de pacientes con baciloscopías positivas y hasta en un 73% de los pacientes con tuberculosis con baciloscopías negativas (91).

La proteína C reactiva ha mostrado ser un marcador inflamatorio que predice la respuesta al tratamiento antifímico, observándose que los niveles de este reactante de fase aguda disminuyen al tiempo que se eleva la hemoglobina en pacientes con tuberculosis pulmonar que responden a la terapia (92)

La proteína C reactiva sérica se encontró contrario a lo esperado, menor de 5 mg/L en la mayoría de pacientes con tuberculosis, pero nuestros hallazgos son consistentes con lo reportado recientemente por Choi CM. (2007) acerca de prevalencia de un nivel sérico menor de Proteína C reactiva en pacientes con tuberculosis pulmonar (93).

Cabe resaltar que en los subgrupos estudiados, se encontró una asociación estadística de la proteína C reactiva con la presencia de ANCA en el suero de pacientes con tuberculosis pulmonar antes y después de recibir tratamiento antifímico, lo que sugiere que la respuesta inflamatoria es mayor en presencia de ANCA, o bien que estos anticuerpos pudieran desempeñar un papel patogénico en la respuesta inflamatoria pulmonar, al igual que se ha descrito en la granulomatosis de Wegener o en otros procesos inflamatorios pulmonares (87, 88).

Con respecto a la asociación de ANCA y HIV, se reportado en la literatura que pacientes con VIH sintomáticos presentan ANCA en 54% contra el 4 % en pacientes con VIH asintomáticos ( $p= 0.0001$ ) y que existe una correlación de 96% entre la positividad de los ANCA e infección pulmonar. Cuando se

compararon los grupos con VIH y tuberculosis versus infección viral sin tuberculosis la correlación de los ANCA fue a favor del primer grupo ( $p= 0.001$ ) (67).

En este estudio se detectó que 5 de los 68 pacientes con ANCA en sueros de primera vez y 2 de 52 sueros tomados durante el tratamiento antifímico eran VIH positivos, sin embargo todos estos casos fueron negativos para ANCA, no encontrando diferencias en nuestro estudio en los parámetros estudiados quizá por el número pequeño de pacientes con tuberculosis y VIH positivo. Se decidió incluir a la totalidad de casos en nuestro estudio con el fin de determinar la frecuencia de ANCA pero se eliminaron los casos en el análisis de características clínicas y demográficas con el fin de tener una población mas uniforme para estudio.



## **CAPÍTULO 7**

### **Conclusiones:**

El tratamiento antifímico modifica la prevalencia de ANCA por IFI en pacientes con tuberculosis pulmonar.

El blanco principal de los ANCA en tuberculosis pulmonar es la proteína bactericida inductora de la permeabilidad bacteriana (BPI).

Se encontró una asociación entre proteína C reactiva y un subgrupo de pacientes con tuberculosis pulmonar que desarrollan ANCA. Su significado es incierto pero los ANCA pudieran desempeñar algún papel patogénico en la respuesta inflamatoria pulmonar.

Se necesitaran mas estudios que aporten información específica sobre el papel de estos autoanticuerpos y de su correlación con las diversas citocinas y reactantes de fase aguda para entender mejor la inmunopatogenia de la tuberculosis pulmonar.

## **CAPÍTULO 8**

### **BIBLIOGRAFIA**

1. Mandell. Principles and Practice of Infectious Diseases. 5th Edition  
ed.Churchill Livingstone, Inc.; 2000.
2. Dirección General de Estadística e Informática de la Secretaria de Salud,  
México. Principales resultados de la estadística sobre mortalidad en México,  
1999. Salud Pública De México 2001; 43 :67-73.
3. Flores-Suarez LF, Cabiedes J, Villa AR, van der Woude FJ, Alcocer-Varela J.  
Prevalence of antineutrophil cytoplasmic autoantibodies in patients with  
tuberculosis. Rheumatology (Oxford) 2003; 42 :223-9.
4. Dunlap NE, Briles DE. Immunology of tuberculosis. Med Clin North Am 1993;  
77 :1235-51.
5. Aleman M, Beigier-Bompadre M, Borghetti C, de la Barrera S, Abbate E,  
Isturiz M, et al. Activation of peripheral blood neutrophils from patients with  
active advanced tuberculosis. Clin Immunol 2001; 100 :87-95.
6. Seiler P, Aichele P, Raupach B, Odermatt B, Steinhoff U, Kaufmann SH.  
Rapid neutrophil response controls fast-replicating intracellular bacteria but not  
slow-replicating Mycobacterium tuberculosis. J Infect Dis 2000;181 :671-80.

7. Faldt J, Dahlgren C, Karlsson A, Ahmed AM, Minnikin DE, Ridell M. Activation of human neutrophils by mycobacterial phenolic glycolipids. Clin Exp Immunol 1999; 118 :253-60.
8. Flores-Suarez LF. [ANCAS, one, two or three Fates?]. Rev Invest Clin 2001; 53 :159-73.
9. Niles JL, McCluskey RT, Ahmad MF, Arnaout MA. Wegener's granulomatosis autoantigen is a novel neutrophil serine proteinase. Blood 1989; 74 :1888-93.
10. van der Woude FJ, Rasmussen N, Lobatto S, Wiik A, Permin H, van Es LA, et al. Autoantibodies against neutrophils and monocytes: tool for diagnosis and marker of disease activity in Wegener's granulomatosis. Lancet 1985; 1: 425-9.
11. Zidar N, Volavsek M, Trcek C, Kern I, Gale N. Wegener's granulomatosis in the upper respiratory tract. Wien Klin Wochenschr 2000; 112:676-9.
12. Takahashi K, Suda S, Takayama M, Deguchi F, Matsuda O, Tachibana K, et al. [A case of MPO ANCA associated glomerulonephritis with interstitial pneumonitis complicated with lung tuberculosis and pericarditis]. Nippon Jinzo Gakkai Shi 2000; 42:591-6.
13. Khilnani GC, Banga A, Sharma SC, Gupta SD. Wegener's granulomatosis: an isolated lung mass responding to antituberculosis therapy and atypical course. J Assoc Physicians India 2003; 51:731-3.
14. Golecki M, Jankowska R, Werynska B. [Wegener's granulomatosis--a disease of many faces]. Pneumonol Alergol Pol 2002; 70:594-600.

15. Pradhan M, Meyers KE, Guttenberg M, Kaplan BS. Wegener granulomatosis--an atypical case. *Pediatr Nephrol* 2000; 14:862-71.
16. Gordon C, Luqmani R, Fields P, Howie AJ, Emery P. Two cases of 'Wegener's tuberculosis'. *Br J Rheumatol* 1993; 32:143-9.
17. Savige J, Gillis D, Benson E, Davies D, Esnault V, Falk RJ, et al. International Consensus Statement on Testing and Reporting of Antineutrophil Cytoplasmic Antibodies (ANCA). *Am J Clin Pathol* 1999; 111:507-13.
18. Segelmark M, Phillips BD, Hogan SL, Falk RJ, Jennette JC. Monitoring proteinase 3 antineutrophil cytoplasmic antibodies for detection of relapses in small vessel vasculitis. *Clin Diagn Lab Immunol* 2003; 10:769-74.
19. Nowack R, Grab I, Flores-Suarez LF, Schnulle P, Yard B, van der Woude FJ. ANCA titres, even of IgG subclasses, and soluble CD14 fail to predict relapses in patients with ANCA-associated vasculitis. *Nephrol Dial Transplant* 2001; 16:1631-7.
20. Westman KW, Selga D, Bygren P, Segelmark M, Baslund B, Wiik A, et al. Clinical evaluation of a capture ELISA for detection of proteinase-3 antineutrophil cytoplasmic antibody. *Kidney Int* 1998; 53:1230-6.
21. Rao JK, Allen NB, Feussner JR, Weinberger M. A prospective study of antineutrophil cytoplasmic antibody (c-ANCA) and clinical criteria in diagnosing Wegener's granulomatosis. *Lancet* 1995; 346:926-31.

22. Hagen EC, Daha MR, Hermans J, Andrassy K, Csernok E, Gaskin G, et al. Diagnostic value of standardized assays for anti-neutrophil cytoplasmic antibodies in idiopathic systemic vasculitis. EC/BCR Project for ANCA Assay Standardization. *Kidney Int* 1998; 53:743-53.
23. Rao JK, Weinberger M, Oddone EZ, Allen NB, Landsman P, Feussner JR. The role of antineutrophil cytoplasmic antibody (c-ANCA) testing in the diagnosis of Wegener granulomatosis. A literature review and meta-analysis. *Ann Intern Med* 1995; 123:925-32.
24. Bartunkova J, Tesar V, Sediva A. Diagnostic and pathogenetic role of antineutrophil cytoplasmic autoantibodies. *Clin Immunol* 2003; 106:73-82.
25. Kamesh L, Harper L, Savage CO. ANCA-positive vasculitis. *J Am Soc Nephrol* 2002; 13:1953-60.
26. Falk RJ, Jennette JC. ANCA are pathogenic--oh yes they are!. *J Am Soc Nephrol* 2002; 13:1977-9.
27. Witko-Sarsat V, Lesavre P, Lopez S, Bessou G, Hieblot C, Prum B, et al. A large subset of neutrophils expressing membrane proteinase 3 is a risk factor for vasculitis and rheumatoid arthritis. *J Am Soc Nephrol* 1999; 10:1224-33.
28. Witko-Sarsat V, Cramer EM, Hieblot C, Guichard J, Nusbaum P, Lopez S, et al. Presence of proteinase 3 in secretory vesicles: evidence of a novel, highly mobilizable intracellular pool distinct from azurophil granules. *Blood* 1999; 94: 2487-96.

29. Falk RJ, Terrell RS, Charles LA, Jennette JC. Anti-neutrophil cytoplasmic autoantibodies induce neutrophils to degranulate and produce oxygen radicals in vitro. *Proc Natl Acad Sci USA* 1990; 87:4115-9.
30. Kocher M, Edberg JC, Fleit HB, Kimberly RP. Antineutrophil cytoplasmic antibodies preferentially engage Fc gammaRIIIb on human neutrophils. *J Immunol* 1998; 161:6909-14.
31. Reumaux D, Vossebeld PJ, Roos D, Verhoeven AJ. Effect of tumor necrosis factor-induced integrin activation on Fc gamma receptor II-mediated signal transduction: relevance for activation of neutrophils by anti-proteinase 3 or anti-myeloperoxidase antibodies. *Blood* 1995; 86:3189-95.
32. Moosig F, Csernok E, Kumanovics G, Gross WL. Opsonization of apoptotic neutrophils by anti-neutrophil cytoplasmic antibodies (ANCA) leads to enhanced uptake by macrophages and increased release of tumour necrosis factor-alpha (TNF-alpha). *Clin Exp Immunol* 2000; 122:499-503.
33. Roux-Lombard P, Lin HC, Peter JB, Dayer JM. Elevated serum levels of TNF soluble receptors in patients with positive anti-neutrophil cytoplasmic antibodies. *Br J Rheumatol* 1994; 33:428-31.
34. Savige J, Dimech W, Fritzler M, Goeken J, Hagen EC, Jennette JC, et al. Addendum to the International Consensus Statement on testing and reporting of antineutrophil cytoplasmic antibodies. Quality control guidelines, comments, and

recommendations for testing in other autoimmune diseases. *Am J Clin Pathol* 2003; 120:312-8.

35. Wiik A. Granulocyte-specific antinuclear antibodies. Possible significance for the pathogenesis, clinical features and diagnosis of rheumatoid arthritis. *Allergy* 1980; 35:263-89.

36. Davies DJ, Moran JE, Niall JF, Ryan GB. Segmental necrotising glomerulonephritis with antineutrophil antibody: possible arbovirus aetiology?. *Br Med J (Clin Res Ed)* 1982; 285:606.

37. Sorensen SF, Slot O, Tvede N, Petersen J. A prospective study of vasculitis patients collected in a five year period: evaluation of the Chapel Hill nomenclature. *Ann Rheum Dis* 2000; 59:478-82.

38. Jennette JC, Falk RJ. Small-vessel vasculitis. *N Engl J Med* 1997; 337: 1512-23.

39. Watts RA, Scott DG. Classification and epidemiology of the vasculitides. *Baillieres Clin Rheumatol* 1997;11:191-217.

40. Zhao MH, Jones SJ, Lockwood CM. Bactericidal/permeability-increasing protein (BPI) is an important antigen for anti-neutrophil cytoplasmic autoantibodies (ANCA) in vasculitis. *Clin Exp Immunol* 1995; 99:49-56.

41. Schultz H, Schinke S, Weiss J, Cerundolo V, Gross WL, Gadola S. BPI-ANCA in transporter associated with antigen presentation (TAP) deficiency:

possible role in susceptibility to Gram-negative bacterial infections. Clin Exp Immunol 2003;133:252-9.

42. Arditi M, Zhou J, Huang SH, Luckett PM, Marra MN, Kim KS.

Bactericidal/permeability-increasing protein protects vascular endothelial cells from lipopolysaccharide-induced activation and injury. Infect Immun 1994; 62: 3930-6.

43. Eggena M, Cohavy O, Parseghian MH, Hamkalo BA, Clemens D, Targan SR, et al. Identification of histone H1 as a cognate antigen of the ulcerative colitis-associated marker antibody pANCA. J Autoimmun 2000;14:83-97.

44. Locht H, Skogh T, Wiik A. Characterisation of autoantibodies to neutrophil granule constituents among patients with reactive arthritis, rheumatoid arthritis, and ulcerative colitis. Annals of the Rheumatic Diseases 2000; 59:898.

45. Mallolas J, Esteve M, Rius E, Cabre E, Gassull MA. Antineutrophil antibodies associated with ulcerative colitis interact with the antigen(s) during the process of apoptosis. Gut 2000; 47:74.

46. Seibold F, Brandwein S, Simpson S, Terhorst C, Elson CO. pANCA represents a cross-reactivity to enteric bacterial antigens. J Clin Immunol 1998; 18:153-60.

47. Cohavy O, Harth G, Horwitz M, Eggena M, Landers C, Sutton C, et al. Identification of a novel mycobacterial histone H1 homologue (HupB) as an



antigenic target of pANCA monoclonal antibody and serum immunoglobulin A from patients with Crohn's disease. *Infect Immun* 1999; 67:6510-7.

48. Zickerman AM, Allen AC, Talwar V, Olczak SA, Brownlee A, Holland M, et al. IgA myeloma presenting as Henoch-Schonlein purpura with nephritis. *Am J Kidney Dis* 2000; 36:E19.

49. Romani J, Puig L, de Moragas JM. Detection of antineutrophil cytoplasmic antibodies in patients with hepatitis C virus-induced cutaneous vasculitis with mixed cryoglobulinemia. *Arch Dermatol* 1996; 132:974-5.

50. Lamprecht P, Schmitt WH, Gross WL. Mixed cryoglobulinaemia, glomerulonephritis, and ANCA: essential cryoglobulinaemic vasculitis or ANCA-associated vasculitis?. *Nephrol Dial Transplant* 1998; 13:213-21.

51. Lamprecht P, Gutzeit O, Csernok E, Gause A, Longombardo G, Zignego AL, et al. Prevalence of ANCA in mixed cryoglobulinemia and chronic hepatitis C virus infection. *Clin Exp Rheumatol* 2003; 21:S89-94.

52. Durand JM, Mege JL, Velut JG, Escallier JC, Kaplanski G, Quiles N, et al. Antineutrophil cytoplasmic antibodies and infection. *Autoimmunity* 1993;15:81-3.

53. Mege JL, Escallier JC, Capo C, Bongrand P, Velut JG, Quiles N, et al. Anti-neutrophil cytoplasmic antibodies (ANCA) and infection. *Adv Exp Med Biol* 1993;336:353-6.

54. Freire BF, Ferraz AA, Nakayama E, Ura S, Queluz TT. Anti-neutrophil cytoplasmic antibodies (ANCA) in the clinical forms of leprosy. *Int J Lepr Other Mycobact Dis* 1998; 66:475-82.
55. Medina F, Camargo A, Moreno J, Zonana-Nacach A, Aceves-Avila J, Fraga A. Anti-neutrophil cytoplasmic autoantibodies in leprosy. *Br J Rheumatol* 1998; 37:270-3.
56. Pudifin DJ, Duursma J, Gathiram V, Jackson TF. Invasive amoebiasis is associated with the development of anti-neutrophil cytoplasmic antibody. *Clin Exp Immunol* 1994; 97:48-51.
57. Subra JF, Michelet C, Laporte J, Carrere F, Reboul P, Cartier F, et al. The presence of cytoplasmic antineutrophil cytoplasmic antibodies (C-ANCA) in the course of subacute bacterial endocarditis with glomerular involvement, coincidence or association?. *Clin Nephrol* 1998; 49:15-8.
58. Pradhan V, Badakere SS, Shankarkumar U, Iyer YS, Ghosh K, Karnad D. Anti-neutrophil cytoplasmic antibodies (ANCA) in malaria. *Indian J Malariol* 2002; 39:51-9.
59. Yahya TM, Benedict S, Shalabi A, Bayoumi R. Anti-neutrophil cytoplasmic antibody (ANCA) in malaria is directed against cathepsin G. *Clin Exp Immunol* 1997; 110:41-4.

60. Jones R, Shah S, MacMahon EE, Goldsmith DJ. Respiratory syncytial virus pneumonitis complicating immunosuppressive treatment for ANCA-positive vasculitis. *Nephrol Dial Transplant* 2003; 18:1920-2.
61. Davenport A, Lock RJ, Wallington TB. Clinical relevance of testing for antineutrophil cytoplasm antibodies (ANCA) with a standard indirect immunofluorescence ANCA test in patients with upper or lower respiratory tract symptoms. *Thorax* 1994; 49:213-7.
62. Ardiles LG, Valderrama G, Moya P, Mezzano SA. Incidence and studies on antigenic specificities of antineutrophil-cytoplasmic autoantibodies (ANCA) in poststreptococcal glomerulonephritis. *Clin Nephrol* 1997; 47:1-5.
63. Constantin A, Marin F, Oksman F, Bouteiller G. Antineutrophil cytoplasmic antibodies in leptospirosis. *J Rheumatol* 1996; 23:411.
64. Stappaerts I, Bogers J, Ebo D, Vanden Broecke E, Stevens WJ, Van Marck E, et al. c-ANCA positivity in a Belgian patient with pulmonary paracoccidioidomycosis. *Eur Respir J* 1997; 10:2419-22.
65. Galperin C, Shoenfeld Y, Gilburd B, Esterre P, Meroni PL, Del Papa N, et al. Anti-neutrophil cytoplasmic antibodies in patients with chromomycosis. *Clin Exp Rheumatol* 1996; 14:479-83.
66. Cornely OA, Hauschild S, Weise C, Csernok E, Gross WL, Salzberger B, et al. Seroprevalence and disease association of antineutrophil cytoplasmic autoantibodies and antigens in HIV infection. *Infection* 1999;27:92-6.

67. Habegger de Sorrentino A, Motta P, Iliovich E, Sorrentino AP. [Anti-neutrophil cytoplasmic antibodies (ANCA) in patients with symptomatic and asymptomatic HIV infection]. *Medicina (B Aires)* 1997;57:294-8.
68. Kassan H, Cohavy O, Rosenbaum JT, Braun J, Gordon LK. Uveitis seroreactivity to candidate pANCA antigens: mycobacterial HupB and histone H1(69-171). *Ocul Immunol Inflamm* 2005;13:191-8.
69. Mahr A, Teixeira L, Jauregui F, Noeumll L, Nunes H, Lefort A, et al. Low seroprevalence and poor specificity of anti-neutrophil cytoplasm antibodies (ANCA) in tuberculosis[abstract]. *Ann Rheu Dis* 2004;63 Suppl 1:314.
70. Teixeira L, Mahr A, Jauregui F, Noel LH, Nunes H, Lefort A, et al. Low seroprevalence and poor specificity of antineutrophil cytoplasmic antibodies in tuberculosis. *Rheumatology (Oxford)* 2005; 44:247-50.
71. Dannenberg L, Haubitz M, Schaberg T, Hummel S, Glöbel U. Pulmonary tuberculosis and ANCA [abstract]. *Clin Exp Immunol* 1998;112 :35.
72. Pradhan VD, Badakere SS, Ghosh K, Pawar AR. Spectrum of anti-neutrophil cytoplasmic antibodies in patients with pulmonary tuberculosis overlaps with that of Wegener's granulomatosis. *Indian J Med Sci* 2004; 58:283-8.
73. Telzak EE, Fazal BA, Pollard CL, Turett GS, Justman JE, Blum S. Factors influencing time to sputum conversion among patients with smear-positive pulmonary tuberculosis. *Clin Infect Dis* 1997; 25 :666-70.

74. Wiatr E, Labecka H, Plodziszewska M, Maziarka D, Wawrzynska L, Zych J, et al. [Usefulness of analyzing ANCA changes for diagnosis of Wegener's granulomatosis]. *Pneumonol Alergol Pol* 1999;67 :294-301.
75. Yung RL, Richardson BC. Drug-induced lupus. *Rheum Dis Clin North Am* 1994; 20 :61-86.
76. Rothfield NF, Bierer WF, Garfield JW. Isoniazid induction of antinuclear antibodies. A prospective study. *Ann Intern Med* 1978; 88 :650-2.
77. Borgmann S, Haubitz M. Genetic impact of pathogenesis and prognosis of ANCA-associated vasculitides. *Clin Exp Rheumatol* 2004;22:S79-86.
78. Shankarkumar U, Ghosh K, Pradhan VD, Badakere SS, Mohanty D. Immunogenetic association in patients with antineutrophil cytoplasmic antibodies (ANCA) from Mumbai, Maharashtra, India. *J Autoimmun* 2005; 24:227-33.
79. Preston GA, Pendergraft WF, 3rd, Falk RJ. New insights that link microbes with the generation of antineutrophil cytoplasmic autoantibodies: the theory of autoantigen complementarity. *Curr Opin Nephrol Hypertens* 2005; 14:217-22.
80. Nassberger L, Sjöholm AG, Jonsson H, Sturfelt G, Akesson A. Autoantibodies against neutrophil cytoplasm components in systemic lupus erythematosus and in hydralazine-induced lupus. *Clin Exp Immunol* 1990; 81:380-3.

81. Aloush V, Litinsky I, Caspi D, Elkayam O. Propylthiouracil-induced autoimmune syndromes: two distinct clinical presentations with different course and management. *Semin Arthritis Rheum* 2006; 36:4-9.
82. Bonaci-Nikolic B, Nikolic MM, Andrejevic S, Zoric S, Bukilica M. Antineutrophil cytoplasmic antibody (ANCA)-associated autoimmune diseases induced by antithyroid drugs: comparison with idiopathic ANCA vasculitides. *Arthritis Res Ther* 2005;7:R1072-81.
83. Choi HK, Slot MC, Pan G, Weissbach CA, Niles JL, Merkel PA. Evaluation of antineutrophil cytoplasmic antibody seroconversion induced by minocycline, sulfasalazine, or penicillamine. *Arthritis Rheum* 2000; 43:2488-92.
84. Hillis GS, Khan IH, Simpson JG, Rees AJ. Scleroderma, D-penicillamine treatment, and progressive renal failure associated with positive antimyeloperoxidase antineutrophil cytoplasmic antibodies. *Am J Kidney Dis* 1997; 30:279-81.
85. Choi HK, Merkel PA, Walker AM, Niles JL. Drug-associated antineutrophil cytoplasmic antibody-positive vasculitis: prevalence among patients with high titers of antimyeloperoxidase antibodies. *Arthritis Rheum* 2000; 43:405-13.
86. Schultz H, Csernok E, Herlyn K, Reichel PH, Moosig F, Cornely OA, et al. ANCA against bactericidal/permeability-increasing protein, azurocidin, calprotectin and defensins in rheumatic and infectious diseases: prevalence and clinical associations. *Clin Exp Rheumatol* 2003; 21:S117-20.

87. Dorlochter L, Carlsson M, Olafsdottir EJ, Roksund OD, Rosendahl K, Fluge G. Anti-neutrophil cytoplasmatic antibodies and lung disease in cystic fibrosis. *J Cyst Fibros* 2004;3 :179-83.
88. Schultz H, Heintz H, van Zandbergen G, Ullrich S, Reinhold-Keller E, Gross WL. ANCA against the bactericidal/permeability increasing protein (BPI-ANCA) can compromise the antibiotic function of BPI in a Wegener's granulomatosis patient. *Clin Exp Rheumatol* 2003; 21:763-6.
89. Koyanagi A, Kuffo D, Gresely L, Shenkin A, Cuevas LE. Relationships between serum concentrations of C-reactive protein and micronutrients, in patients with tuberculosis. *Ann Trop Med Parasitol* 2004; 98:391-9.
90. Chierakul N, Kanitsap A, Chaiprasert A, Viriyataveekul R. A simple C-reactive protein measurement for the differentiation between tuberculous and malignant pleural effusion. *Respirology* 2004; 9 :66-9.
91. Ito K, Yoshiyama T, Wada M, Ogata H. C-reactive protein in patients with bacteriological positive lung tuberculosis. *Kekkaku* 2004;79:309-11.
92. Lawn SD, Obeng J, Acheampong JW, Griffin GE. Resolution of the acute-phase response in West African patients receiving treatment for pulmonary tuberculosis. *Int J Tuberc Lung Dis* 2000; 4 :340-4.
93. Choi CM, Kang CI, Jeung WK, Kim DH, Lee CH, Yim JJ. Role of the C-reactive protein for the diagnosis of TB among military personnel in South Korea. *Int J Tuberc Lung Dis* 2007; 11 :233-6.

**Tabla 1. Sensibilidad y especificidad de los ANCA en granulomatosis de Wegener.**

Granulomatosis de Wegener	Sensibilidad	Especificidad
C-ANCA	64%	95%
P-ANCA	21%	81%
PR3-ANCA	23%	87%
MPO-ANCA	23%	91%



**Tabla 2. Principales características clínicas y demográficas de los 68 pacientes con tuberculosis pulmonar**

<b>Características de la población</b>	<b>Resultados</b>
Femeninos n (%)	29 (42.64)
Edad (años) Media $\pm$ DS	39.2 (14.81)
BAAR(+) inicial n (%)	52 (76.47)
Combe(+)n (%)	19 (27.94)
Historia de BCG n (%)	51 ( 75.00)
Drogadicción n (%)	11 (16.17)
Tabaquismo n (%)	18 (26.47)
Diabetes n (%)	22 (32.35)
Alcoholismo n (%)	18 (26.47)
HIV n (%)	5 (7.35)
Días con síntomas antes del 1a.toma Media $\pm$ DS	64.66 (55.49)

**Tabla 3. Principales características radiográficas de los 68 pacientes con tuberculosis pulmonar antes del tratamiento antifímico**

<b>Características radiográficas</b>	<b>Resultados</b>
Infiltrado fibrocavitario n (%)	50 ( 73.52)
Derrame pleural n (%)	4 ( 5.88)
Consolidación n (%)	9 (13.23)
Infiltrado reticulonodular n (%)	40 ( 58.82)
Atelectasia n (%)	7 (10.29)
Neumotórax n (%)	1 (1.47)

**Tabla 4. Características clínicas y demográficas de los pacientes según su patrón de ANCA por IF**

	ANCA (+) n=15	ANCA (-) n=35	p=
Masculinos	6 (40%)	23(65.71%)	0.091**
Edad (años) Media±DS	41.46 (17.06)	40.4 (14.38)	0.924*
Drogadicción	2 (13.33)	5 (14.28)	0.929**
Tabaquismo	4 (26.66)	10 (28.57)	0.891**
Diabetes	7 (46)	13 (35)	0.529**
Alcoholismo	3 (20)	11 (31.42)	0.409**
Artralgias	0 (0)	1 (2.85)	0.508**
Uso de corticoesteroides	0 (0)	1(2.85)	0.508**
Días con síntomas antes del 1a.toma. Media±DS	65.73 (60.23)	77.08 (62.39)	0.48*
Días entre el inicio de antifímicos y 2a.toma. Media±DS	101.66 (48.81)	107.85 (65.80)	0.96*
Análisis estadístico:			
* U-Mann-Whitney Test			
** Chi-cuadrada			
*** Prueba exacta de Fisher			

**Tabla 5. Resultados bacteriológicos, radiográficos y de proteína C reactiva de los pacientes según su patrón de ANCA por IF.**

	ANCA (+) n=15	ANCA (-) n=35	p=
BAAR(+) inicial	10 (66.66)	28 (80)	0.712**
Multiresistencia	1 (6.6)	4 (11.42)	0.607**
Combe(+)	6 (40)	9(25.71)	0.312**
Historia de BCG	12 (80)	26 (74.28)	0.665**
Infiltrado fibrocavitario	12 (80)	25 (71.42)	0.527**
Derrame pleural	2 (13.33)	1 (2.85)	0.211***
Consolidación	2 (13.33)	3 (8.57)	0.629***
Infiltrado reticulonodular	5 (33.33)	22 (62.85)	0.107**
Atelectasia	2 (13.33)	5(14.28)	0.899***
Neumotórax	0 (0)	1 (2.85)	1.00***
Proteína C Reactiva > 5mg/L n(%)	3 (20)	2 (5.4)	0.152***
Análisis estadístico: * U-Mann-Whitney Test ** Chi-cuadrada *** Prueba exacta de Fisher			

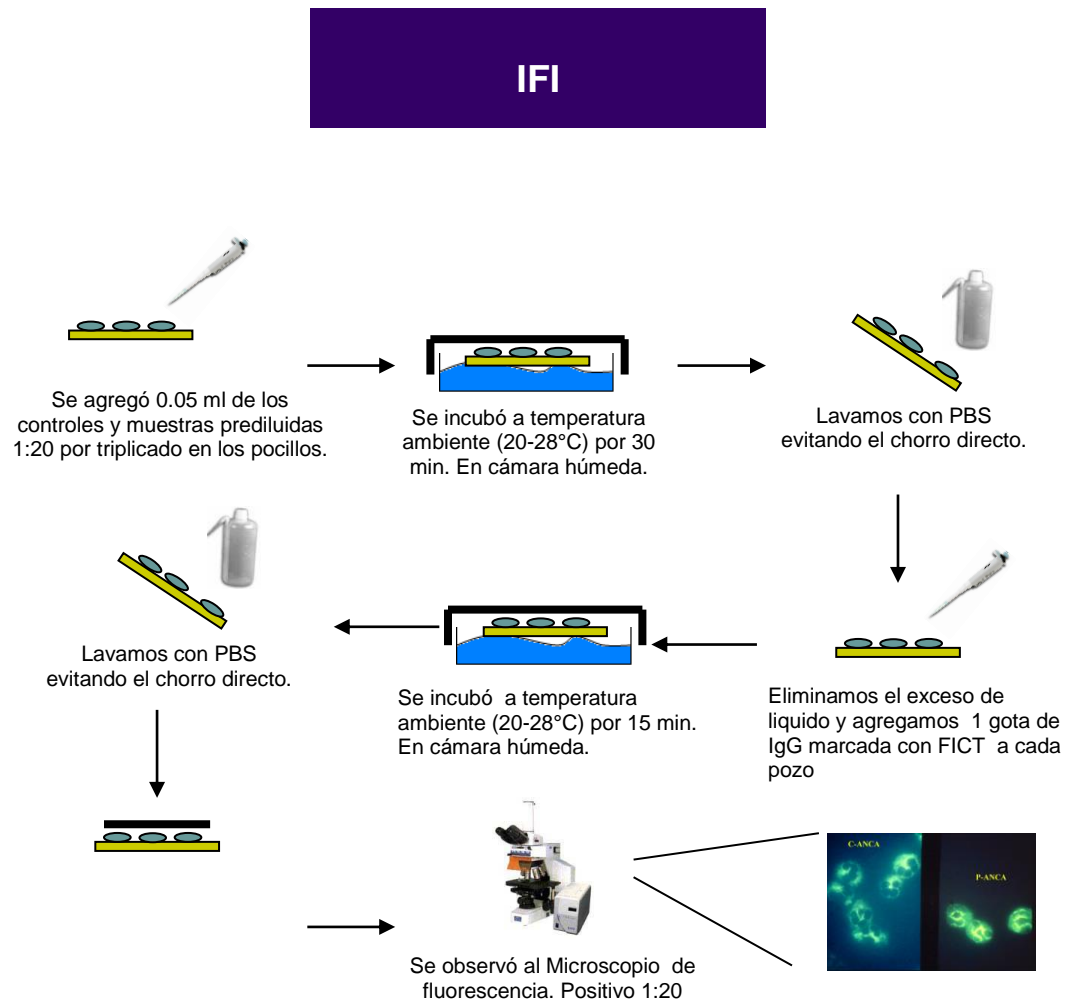


Figura 1. Se ilustra la técnica de inmunofluorescencia indirecta, la cual fue utilizada para la determinación de ANCA en sustrato de neutrófilos fijados en etanol y en sustrato de neutrófilos fijados en formalina.

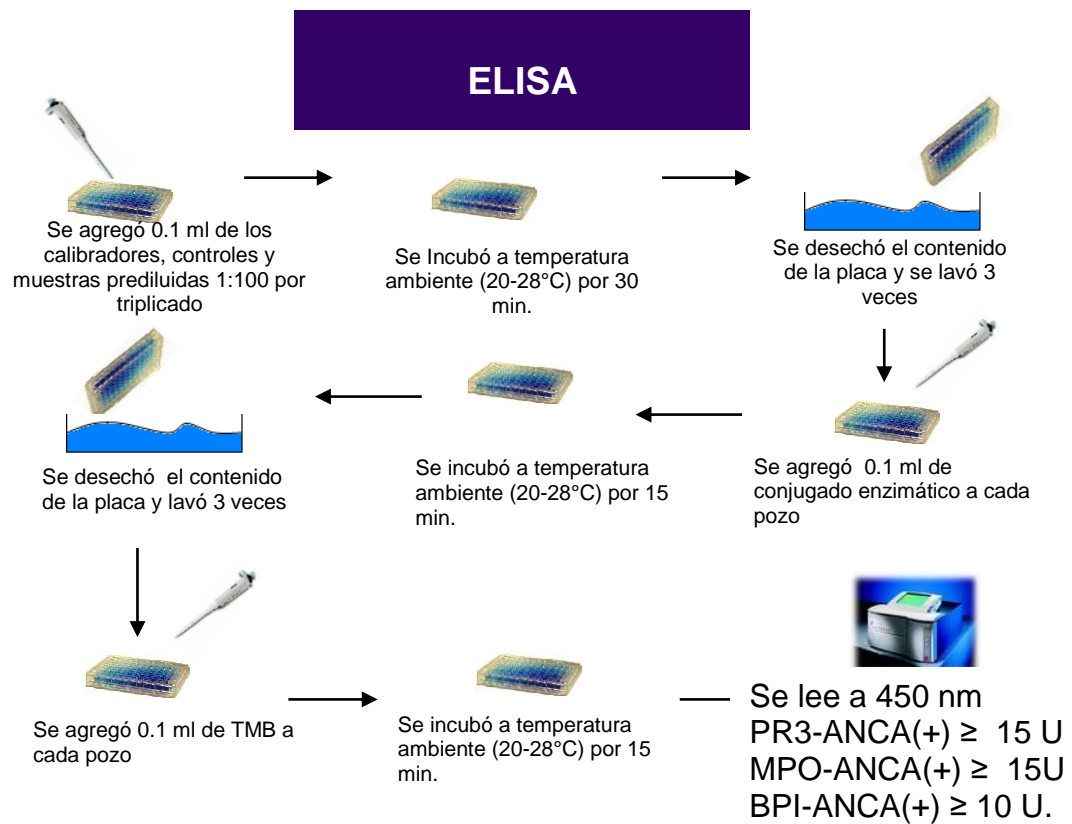


Figura 2. Descripción de la técnica de ELISA para la determinación de los anticuerpos dirigidos contra PR-3, MPO y BPI- ANCA

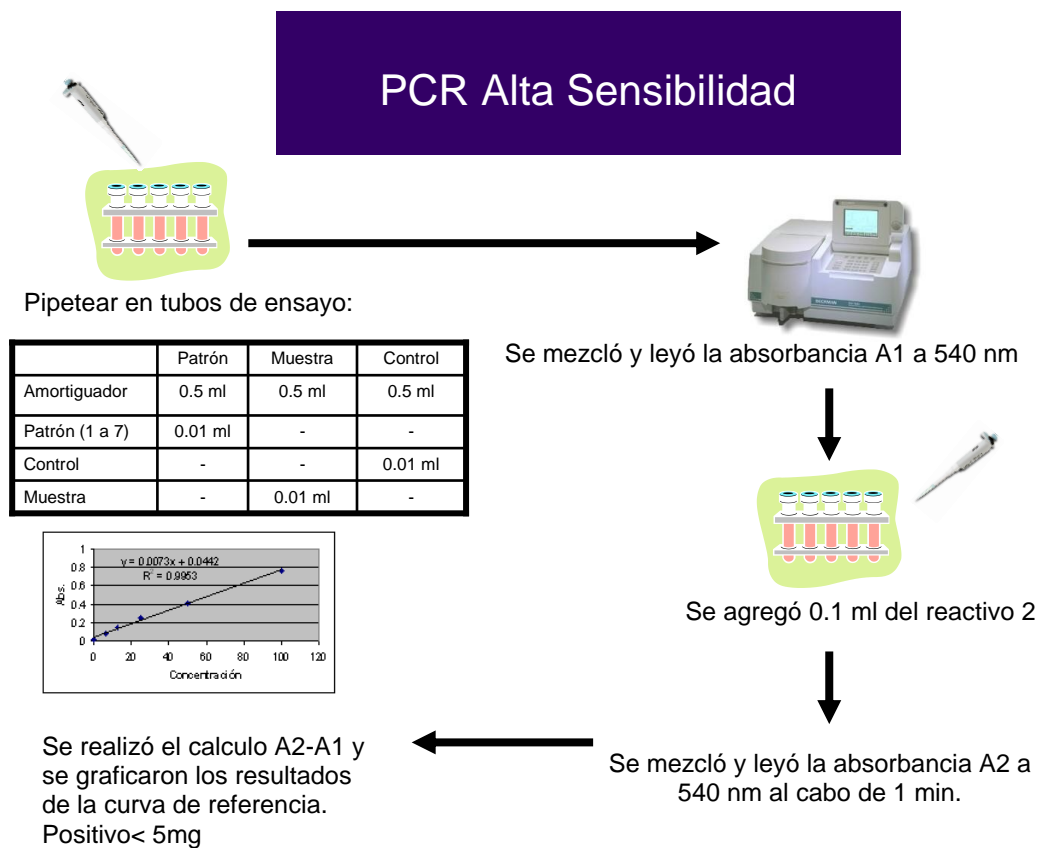
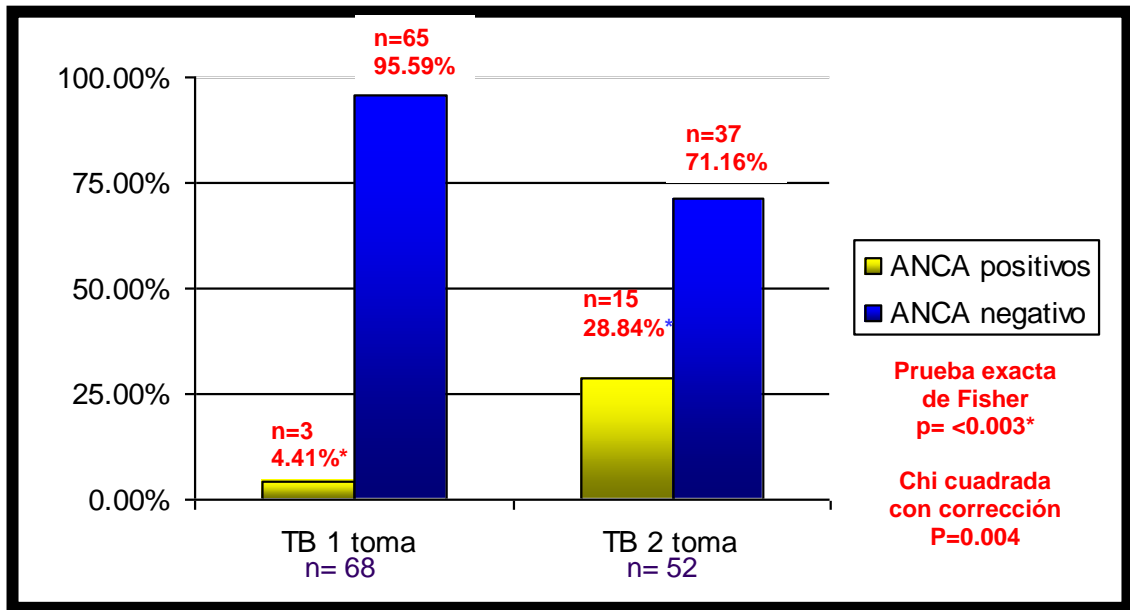


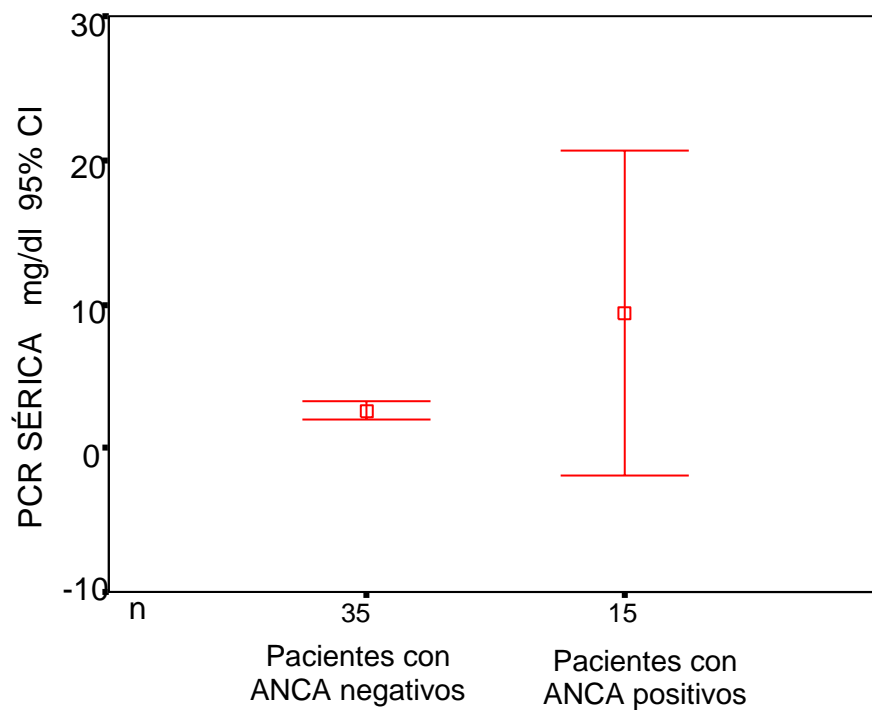
Figura 3. Descripción del procedimiento utilizado para la determinación de la PCR de alta sensibilidad.

## Pacientes ANCA positivos



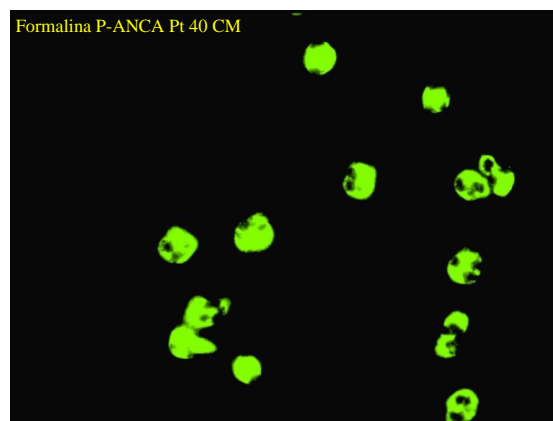
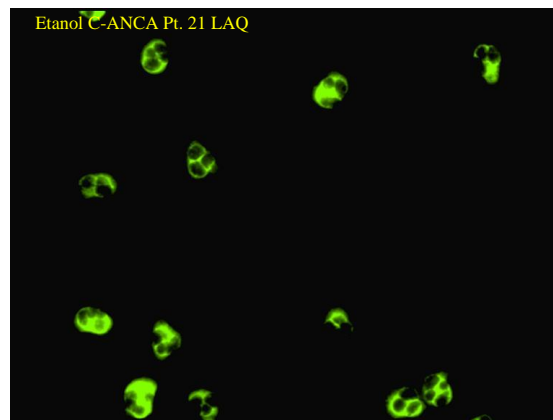
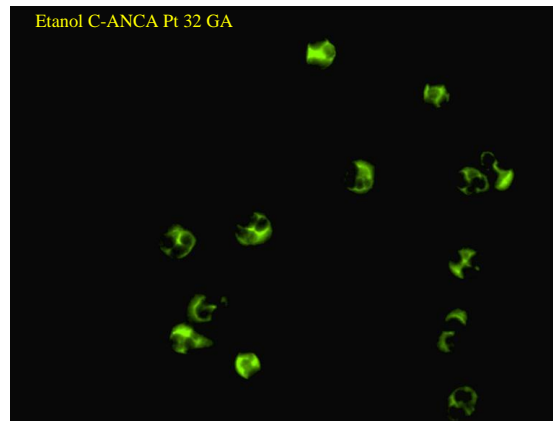
Gráfica 1. Comparación de la frecuencia de ANCA por IFI en sueros de pacientes con tuberculosis confirmada por cultivos en sueros antes de tratamiento antifímico (TB toma 1) o después de éste (TB toma 2)  
5/68 pacientes en el suero de 1ª. toma con tuberculosis tenían VIH y 2/52 en la segunda muestra, todos estos ANCA negativos.



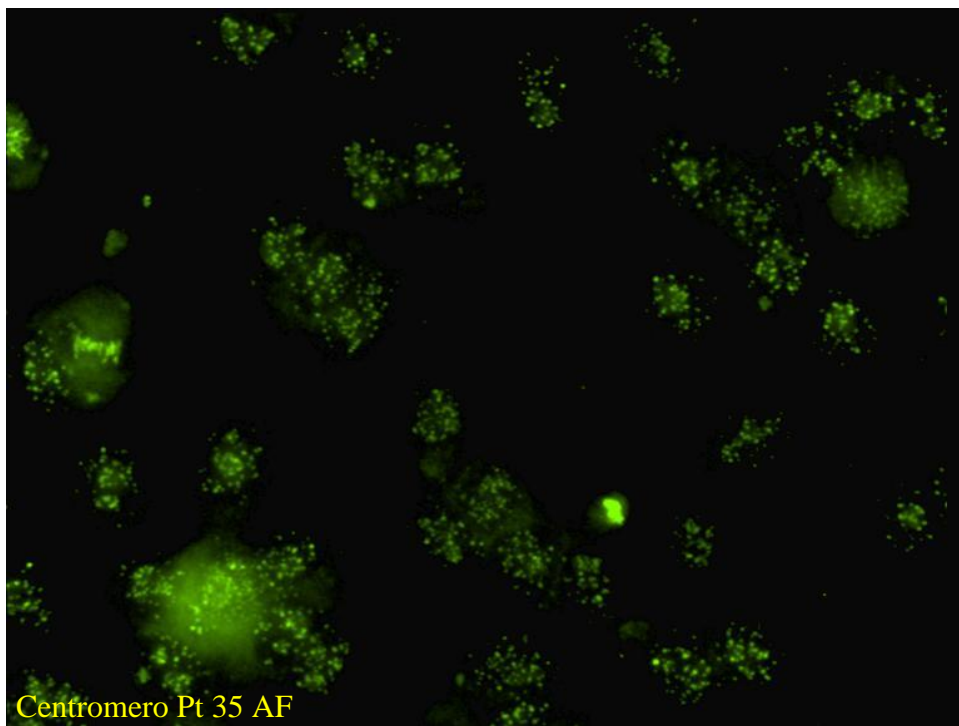
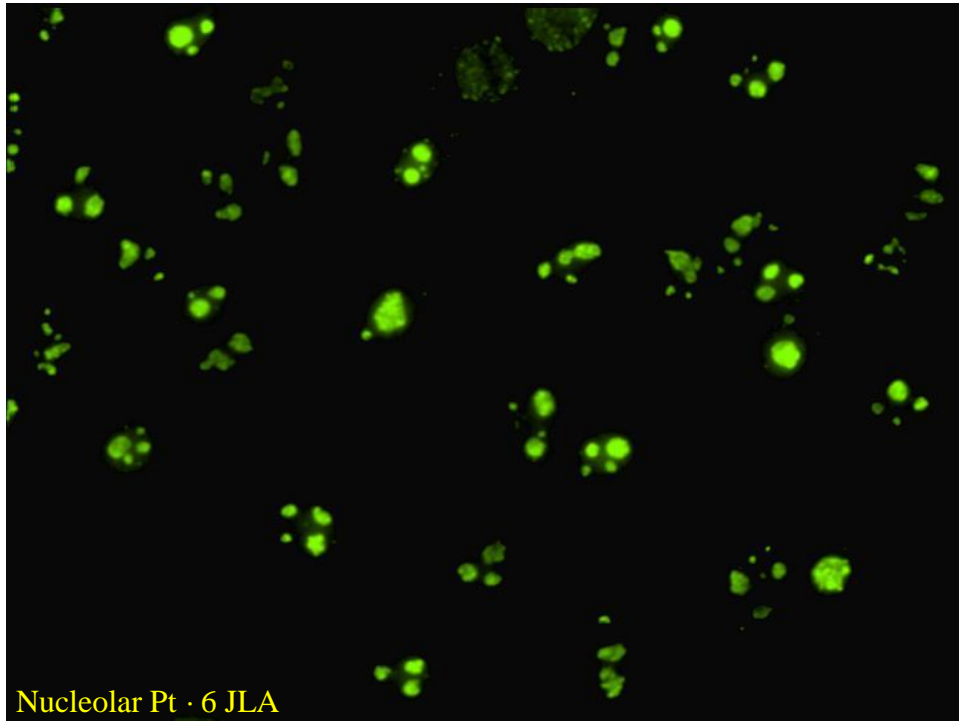


Gráfica 2. Comparación entre los valores de Proteína C reactiva en sueros de segunda toma de pacientes con tuberculosis con ANCA positivos comparados con pacientes ANCA negativos después de recibir tratamiento antifímico. Las diferencias fueron estadísticamente significativas  $p= 0.001$

## FOTOGRAFÍAS DE ANCA DETERMINADOS EN SUSTRATO DE NEUTRÓFILOS FIJADOS EN ETANOL O FORMALINA EN PACIENTES CON TUBERCULOSIS PULMONAR



**FOTOGRAFÍAS DE ANTICUERPOS ANTINUCLEARES EN  
SUSTRATO DE CÉLULAS Hep-2 DE SUEROS P-ANCA FALSOS  
POSITIVOS EN PACIENTES CON TUBERCULOSIS PULMONAR  
ACTIVA**





## FORMATO DE CONSENTIMIENTO

PROTOCOLO No:

**TÍTULO: DETERMINACION DE ANTICUERPOS ANTI-CITOPLASMA DE NEUTROFILOS EN PACIENTES CON TUBERCULOSIS ACTIVA.**

Se le invita a participar en un estudio de investigación. Usted debe decidir si desea participar o no. Tómese un tiempo para llegar a una decisión. Lea con cuidado lo que aparece a continuación y consulte con el doctor del estudio sobre cualquier duda que usted pueda tener. El estudio es conducido por el Dr. Jorge A. Esquivel Valerio, para el Servicio de Reumatología y el Servicio de Inmunología de la Universidad Autónoma de Nuevo León.

### **1. ¿Por qué se está realizando este estudio?**

Es un protocolo con fines de investigación acerca de métodos diagnósticos de laboratorio para detectar la presencia de anticuerpos anti-citoplasma de neutrófilos en el suero de pacientes sanos, con enfermedades infecciosas pulmonares y/o vasculitis. Estos anticuerpos se han reportado estar presentes en algunos pacientes con enfermedades inmunológicas e infecciosas y se trata de observar su comportamiento y las manifestaciones clínicas que pudieran estar asociadas. No implica ningún cambio al tratamiento establecido por su médico. **Tampoco se trata de probar ningún medicamento.**

### **2. ¿Quién no debería estar en el estudio?**

Si usted cumple con los siguientes criterios no debería estar en el estudio:

Tiene **menos de 18 años**.

Está **embarazada**.

### **3. ¿Qué me pedirán que haga? ¿Qué requisitos se me pide?**

Se le pedirán 20 ml de sangre y se le harán preguntas sobre su historia clínica. Se le pedirá esta cantidad máximo en dos ocasiones en caso de pacientes con tuberculosis activa, una muestra antes de recibir tratamiento antifímico y otra dos a 3 meses después. Sujetos sanos, los pacientes con otra enfermedad infecciosa granulomatosa no tuberculosa o pacientes con enfermedades autoinmunes como vasculitis solo se les hará una única toma. Con su muestra sanguínea será guardada en congelación para posteriormente utilizarla en hacer los exámenes de laboratorio de este protocolo y otros estudios futuros si Usted otorga su consentimiento.

### **4. ¿Qué efectos adversos (malos) me pueden suceder por participar en el estudio?**

**No hay riesgos para su salud con la extracción de esta cantidad de sangre.**

Ocasionalmente, algunos pacientes experimentan algunos efectos secundarios después de la extracción de sangre como desmayo, inflamación de la vena, dolor, equimosis (moretón) o sangrado en el lugar de la punción. También existe una ligera posibilidad de infección.

### **5. ¿Qué beneficios puedo esperar?**

No hay beneficios económicos, pero se espera que los estudios de laboratorio acerca de estos anticuerpos generará conocimiento nuevo en beneficio de los pacientes

### **6. ¿Quién podrá ver mis registros y saber que yo estoy en el estudio?**

Si usted acuerda participar en este estudio, su nombre se mantendrá confidencial. A menos que lo exija la ley, sólo el doctor y el personal del estudio involucrados en este estudio, los comités independientes de ética. Los resultados del estudio se podrán publicar en literatura médica pero no se me identificará por nombre en ninguna publicación de los resultados de estos estudios.

**7.¿Se me comunicará el descubrimiento de nueva información sobre el estudio?**

Se le podrá comunicar a Usted, si así lo desea sobre cualquier nueva información significativa, que pueda resultar de este estudio.

**8.¿A quién llamo si tengo preguntas?**

Si tiene preguntas sobre sus derechos como sujeto de estudio, llamar al Dr. Francisco Javier Bosques Padilla al 8346-2310. Si tiene preguntas sobre el estudio, llamar al doctor del estudio al Dr. Jorge A. Esquivel Valerio al 8348-2015 o al 8348-2040.

**9.¿Puedo rechazar participar en el estudio y se me puede pedir que abandone el estudio?**

Su participación en este estudio es voluntaria. Usted puede elegir no participar en el estudio o puede abandonarlo en cualquier momento. No perderá usted ningún beneficio al que, de otro modo, tenga derecho. Si usted abandona el estudio, no se le impedirá participar en estudios futuros. Este estudio no implica ningún cambio a su tratamientos médicos convencionales ya establecidos.

**Usted recibirá una copia firmada de este formato de consentimiento.**

\_\_\_\_\_ (Sí/No) he leído y comprendido este formato de consentimiento. Me han respondido todas mis preguntas. Acepto ser voluntario para participar en este estudio.

\_\_\_\_\_ (Sí/No) doy mi consentimiento para que se guarde el suero de la muestra sanguínea que se me tome para este protocolo.

\_\_\_\_\_ (Sí/No) doy mi consentimiento para que se guarde el suero de la muestra sanguínea que se me tome para estudios futuros.

Doy mi consentimiento para que mi muestra sanguínea de suero se guarde por \_\_\_\_\_(años)

\_\_\_\_\_  
**Nombre del Voluntario**

\_\_\_\_\_  
**Firma del Voluntario**

\_\_\_\_\_  
**Fecha**

\_\_\_\_\_  
**Firma de la persona que conduce la revisión del consentimiento**

\_\_\_\_\_  
**Fecha**

\_\_\_\_\_  
**Nombre y firma de Testigo 1**

\_\_\_\_\_  
**Fecha**

\_\_\_\_\_  
**Dirección**

\_\_\_\_\_  
**Parentesco**

\_\_\_\_\_  
**Nombre y firma de Testigo 2**

\_\_\_\_\_  
**Fecha**

\_\_\_\_\_  
**Dirección**

\_\_\_\_\_  
**Parentesco**

**Recibí copia de este consentimiento**

\_\_\_\_\_  
Firma y fecha.

**SERVICIO DE REUMATOLOGIA**

Gonzalitos 235 Nte. Col. Mitras Centro,  
Monterrey N. L. Mexico. C.P. 64020

Tel.8348-2015 8348-2065 Fax.8348-4668

## **RESUMEN AUTOBIOGRAFICO**

Jorge Antonio Esquivel Valerio

Candidato para el Grado de

Doctor en Medicina con Especialidad en Reumatología

**Tesis:** DETERMINACION DE ANTICUERPOS ANTI-CITOPLASMA DE NEUTROFILOS EN PACIENTES CON TUBERCULOSIS

**Campo de Estudio:** Ciencias de la Salud

### **Biografía:**

Datos Personales: Nacido en Monterrey, Nuevo León el 6 de diciembre de 1959, hijo de Salvador Esquivel Ramírez y María de Jesús Valerio Guerrero.

**Educación:** Egresado de la Universidad Autónoma de Nuevo León, grado obtenido Médico Cirujano y Partero en 1983.

Especialidad de Medicina Interna en 1987.

Especialidad de Reumatología en 1989.

**Experiencia Profesional:** Profesor Asociado “A” de Tiempo Completo de la Universidad Autónoma de Nuevo León desde 1989.

**CEDULA PROFESIONAL:** 998316.

**CEDULA PROFESIONAL DE ESPECIALISTA EN MEDICINA**

**INTERNA:** AEIE-34717.

**CEDULA PROFESIONAL DE ESPECIALISTA EN REUMATOLOGÍA. AEIE-34126**

**Membresias:**

- a. Asociación de Medicina Interna de Nuevo León desde 1989
- b. Colegio de Médicos Cirujanos de Nuevo León desde el 2000
- c. Sociedad Mexicana de Reumatología desde 1990.
- d. Capitulo Noreste de la Sociedad Mexicana de Reumatología desde 1991.
- e. American Colleague of Rheumatology desde 1993.

**Actividades de investigacion:**

Publicaciones nacionales en extenso. (Autor, titulo, revista, año, volumen, paginas).

1. Esquivel-Valerio JA, Galarza-Delgado DA; Garza-Elizondo MA Vasculitis. Diagnóstico y manejo actual. Medicina Interna de México Vol. 14, No.4 Julio-Agosto 1998 pag 151-173.
2. Alarcon-Villarreal MA; Esquivel-Valerio JA, Galarza-Delgado DA; Garza-Elizondo MA Prevalencia de Signos y Síntomas articulares entre la Población del área Metropolitana de Monterrey detectada en 1990. Revista Mexicana de Reumatología Volumen 13, No.4 de Julio-Agosto de 1998.
3. Flores-Alvarado DE; Esquivel-Valerio JA, Galarza-Delgado DA; Garza-Elizondo MA Causas de muerte en Lupus. Analisis retrospectivo de

- autopsias de pacientes con Lupus y Revisión de la Literatura. Revista :  
Medicina Universitaria 1998;1(1) 1-6.
4. Navarro-Cano G; Esquivel-Valerio JA, Galarza-Delgado DA; Garza-Elizondo MA Implantes mamarios de silicón y enfermedades difusas del tejido conectivo. Medicina Universitaria 2000; 1.2 ( 8) 199-201,
  5. Esquivel-Valerio JA, Flores-Alvarado DE; Garza-Elizondo MA Esclerodermia Lineal “ en Golpe de Sable”, con epilepsia y calcificaciones intracraneales. Reporte de un caso y revision de la literatura. . Medicina Universitaria , 2000;.2 ( 8): 226-228
  6. Flores DE, Esquivel-Valerio JA, Galarza-Delgado DA; Garza-Elizondo MA Carcinoma epitelial metastásico a médula ósea con primario desconocido asociado a manifestaciones clínicas de Síndrome antifosfolípido. Presentación de un caso clínico. Revista Mexicana de Reumatología 2001; Vol.16 (5): 349-353,.
  7. Navarro-Cano G; Esquivel-Valerio JA, Galarza-Delgado DA; Garza-Elizondo MA. Manifestaciones reumatológicas en pacientes con infección por el Virus de la Inmunodeficiencia Humana. Revista Mexicana de Reumatología 2001; 16; 6 : 381-394,
  8. Navarro-Cano G, Galarza-Delgado DA, Esquivel Valerio JA, Skinner-Taylor CM,Garza-Elizondo MA, Cavazos Adame H, Flores-Orta R. Complicaciones oftalmológicas en pacientes con artritis reumatoide que han tomado corticoesteroides durante mas de seis meses. Medicina Universitaria 2002; 4(15): 64-69..



9. Navarro-Cano G, Esquivel-Valerio JA, Madrigal-Medina KM, Morales-Zambrano R, Skinner Taylor C, Galarza D, Bernard-Medina AG, Garza-Elizondo M, Orozco-Alcalá J, Abud-Mendoza C. Tratamiento de artritis reumatoide refractaria con leflunomida. Revista Mexicana de Reumatología 2002; 17; 4 : 241-246
10. Galarza-Delgado DA. Esquivel-Valerio JA, Garza-Elizondo MA. Médicos, pacientes y administradores en el ejercicio actual de la medicina en México.: Medicina Universitaria 2002;4(17):259-68.
11. F.I. Guerrero Díaz, Navarro-Cano G, Galarza-Delgado DA, Esquivel-Valerio JA, Villarreal-Alarcon MA. Garza-Elizondo MA. Osteoporosis en el Hombre. Medicina Universitario 2003 Vol. 5 No. 21 pp 246-249
12. Castañeda-Sepulveda R., Esquivel-Valerio JA , Nefritis Lúpica. Medicina Universitaria. 2003 Vol 5 No. 20, 161-167.
13. Esquivel Valerio JA., Galarza-Delgado DA. Infliximab en Artritis reumatoide. Revista Mexicana de Reumatología. 2003. Vol 8, No 5. pp 277-280 .

Publicaciones internacionales en extenso. (Autor, titulo, revista, año, volumen, paginas).

1. Escalante, A., D. Galarza-Delgado, TD Beardmore, BA Baethge, J. Esquivel-Valerio, AL Marines, and M. Mingrone, Cross Cultural adaptation of a Brief Outcome Questionnaire for Spanish Speaking Arthritis Patients . Arthritis and Rheumatism Enero de 1996 39(1):93:100.

2. Flores-Alvarado DE,. Esquivel-Valerio JA, Garza Elizondo M, Espinoza LR. Linear scleroderma “En coup de sabre” and brain calcification: Is there a pathogenic relationship? Journal of Rheumatology 2003;30:193-5.

Publicaciones nacionales en resumen. (Autor, titulo, revista, año, volumen, paginas).

1. Navarro-Cano G; Esquivel-Valerio JA; Skinner-Taylor C; Garza-Elizondo MA Tratamiento agresivo de la Artritis reumatoide con Leflunomida. Revista Mexicana de Reumatología Vol.16 Número 1, pag 31. 2001
2. Navarro-Cano G; Esquivel-Valerio JA, Galarza-Delgado DA; Garza-Elizondo MA Bloqueo cardíaco congénito en un neonato de madre con lupus eritematosos sistémico con anticuerpos anti-Ro positivos. Revista Mexicana de Reumatología Vol.16 Número 1, pag 60, 2001.
3. Navarro-Cano G; Esquivel-Valerio JA, Galarza-Delgado DA; Garza-Elizondo MA Carcinoma epitelial metastásico a médula ósea con primario desconocido asociado a manifestaciones clínicas de Síndrome antiofolípido. Revista Mexicana de Reumatología Vol.16 Número 1, pp 71, 2001.
4. Esquivel-Valerio JA; Navarro-Cano G; Flores-Alvarado DE, Galarza-Delgado DA; Garza-Elizondo MA Prevalencia de manifestaciones reumatológicas en pacientes con Diabetes Mellitus. Revista Mexicana de Reumatología Vol.16 Número 1, pp 84, 2001.

5. Garza- Elizondo MA, Vázquez-Marmolejo AV, Galarza-Delgado DA, Esquivel-Valerio JA, Muñiz-Nava JA, Spencer DJ, Salinas Carmona MC. La evolución de la artritis del ratón MRL/ lpr puede ser modificada por la inmunización repetida con antígenos de *Streptococo pneumoniae* o de *Estafilococo aureus*. Revista Mexicana de Reumatología.2001;Vol.17 (1),pp 8, S-9.
6. Navarro-Cano G; Galarza-Delgado DA, Flores Orta R, Esquivel-Valerio JA, Skinner-Taylor CM, Cavazos Adame H, Garza-Elizondo MA. Prevalencia de Chlamidia Ocular en pacientes con artritis reumatoide que toman corticoesteroides. Revista Mexicana de Reumatología , 2001; Vol.17 (1):pp 11, S-15.
7. Benavides-Brito H, Villareal Alarcón MA, Esquivel Valerio JA, Galarza Delgado DA, Garza Elizondo MA. Prevalencia y características de la Hepatitis asociada a Lupus Eritematoso Sistémico en pacientes del Hospital Universitario. Revista Mexicana de Reumatología 2001; Vol.17 (1):pp 32, C-15.
8. Garza- Elizondo MA, Vázquez-Marmolejo AV, Galarza-Delgado DA, Esquivel-Valerio JA, Muñiz-Nava JA, Spencer DJ, Salinas Carmona MC. La evolución de la artritis del ratón MRL/ lpr puede ser modificada por infección con *Nocardia brasiliensis* y *Estafilococo aureus*. Revista Mexicana de Reumatología.2001;Vol.17: 57, C-81.
9. Navarro-Cano G. Flores-Orta R, Galarza-Delgado DA, Esquivel-Valerio JA, Villarreal Alarcón MA, Cavazos Adame H, Garza- Elizondo MA. Complicaciones oftalmológicas en pacientes con artritis

reumatoide toman corticoesteroides. Revista Mexicana de Reumatología.2001;Vol.17 (1),pp 58, C-84.

10. Esquivel-Valerio JA, Navarro-Cano G, Galarza-Delgado DA, Ramos Morales T, Garza-Elizondo MA. Monoartritis persistente en una muñeca de una paciente con artritis reumatoide como manifestación clínica de tuberculosis articular. Revista Mexicana de Reumatología.2001;Vol.17 (1),pp 88, C-159
11. Guerrero Díaz F.I., Villarreal MA, Esquivel JA, Galarza DA, Garza-Elizondo MA. Lupus Eritematoso generalizado de inicio tardío en hombres. presentación de un caso y revisión de la literatura. Medicina Universitaria, 2003 Suplemento . Vol. 5 pp. S193.
12. Guerrero Díaz F.I., Villarreal MA, Esquivel JA, Galarza DA, Garza-Elizondo MA. Parálisis hipokalémica que simula síndrome de Guillian Barre en un paciente con Síndrome de Sjögren primario Medicina Universitaria, 2003,Suplemento . Vol. 5 pp. S194.
13. Navarro Cano G, García-Hernández PA, Galarza-Delgado DA, Skinner-Taylor CM, Esquivel-Valerio JA, Garza-Elizondo MA. Factores de riesgo por interrogatorio asociado a osteoporosis en los pacientes de un centro de diagnóstico. . Revista Mexicana de Reumatología.2004;Vol.19 (1),pp 59.
14. Skinner-Taylor CM, Esquivel-Valerio JA, Flores-Alvarado DE, Villarreal-Alarcón MA, Galarza-Delgado DA, Guerrero-Díaz F, Navarro-Cano G, Garza-Elizondo MA. Esclerodermia familiar. Reporte de 3 casos . Revista Mexicana de Reumatología.2004;Vol.19 : 105.

15. Flores-Alvarado DE, Skinner-Taylor CM, , Esquivel-Valerio JA, Villarreal-Alarcón MA, Galarza-Delgado DA, Guerrero-Díaz F, Navarro-Cano G, Garza-Elizondo MA. Linfoma No Hodgkin en un paciente con vasculitis necrotizante. Revista Mexicana de Reumatología.2004;Vol.19 (1), 106.
16. Guerrero-Díaz F, Navarro-Cano G, Hernández-Soto N, Villarreal-Alarcón MA, Esquivel-Valerio JA, Flores-Alvarado DE, Skinner-Taylor CM,, Galarza-Delgado DA, Pacheco-Hernández JL, Garza-Elizondo MA. Síndrome antifosfolípido secundario asociado a fenómeno de Lucio y deficiencia adquirida de proteína C en lepra lepromatosa. Revista Mexicana de Reumatología.2004;Vol.19 (1),pp 112.
17. Rodríguez-Amado J, Saucedo-Durán AY, Hernández Soto NE, Ramirez-Aranda JM, Flores- Alvarado DE, Skinner-Taylor CM, Villarreal –Alarcón MA, Esquivel-Valerio JA, Galarza-Delgado DA, Garza-Elizondo MA. Frecuencia de síntomas psicológicos evaluados a través del inventario de síntomas clínicos 90-R(SCL-90R) en pacientes con Fibromialgia y otras causas de dolor crónico. Revista Mexicana de Reumatología.2005;Vol.20 (1),pp 19.
18. Hernanez-Soto NE, , Esquivel-Valerio JA, Saucedo-Durán AY, Rodríguez-Amado J, Flores- Alvarado DE, Skinner-Taylor CM, Villarreal –Alarcón MA, Galarza-Delgado, Garza-Elizondo MA. Espondilitis anquilosante en mujeres. Revista Mexicana de Reumatología.2005;Vol.20 (1),pp 19.

19. Navarro-Cano G, García-Hernández PA, Galarza-Delgado DA,,  
Esquivel-Valerio JA, Rodríguez-Amado J, Garza-Elizondo MA.  
Análisis de la respuesta a tratamiento de pacientes con densitometría  
subsecuente de un centro de diagnóstico de osteoporosis(OP).  
Revista Mexicana de Reumatología.2005;Vol.20 (1),pp 54.
20. Navarro-Cano G, García-Hernández PA, Galarza-Delgado DA,,  
Flores- Alvarado DE, Esquivel-Valerio JA, Villarreal –Alarcón MA,  
Rodríguez-Amado J, Garza-Elizondo MA. Tendencia de tratamiento  
en pacientes con osteoporosis y Osteopenia, respuesta  
densitométrica a estos según la especialidad del médico tratante.  
Revista Mexicana de Reumatología.2005;Vol.20 (1),pp 57.
21. Hernández-Soto NE, Saucedo-Durán AY, Flores-Alvarado DE,  
Rodríguez-Amado J , Skinner-Taylor CM, , Villarreal –Alarcón MA,  
Esquivel-Valerio JA, , Galarza-Delgado, Garza-Elizondo MA.  
Lesiones destructivas de la línea media: descripción de seis  
pacientes. Revista Mexicana de Reumatología.2005;Vol.20 (1),pp 63.
22. Rodríguez-Amado J, Saucedo-Durán AY, Hernández-Soto NE,  
Ramírez-Aranda JM, Flores-Alvarado DE, Skinner-Taylor CM,  
Villarreal –Alarcón MA, Esquivel-Valerio JA, Galarza-Delgado, Garza-  
Elizondo MA. Revaloración del diagnóstico de Fibromialgia con el uso  
del algómetro. Revista Mexicana de Reumatología.2005;Vol.20 (1),pp  
87.
23. Saucedo-Durán AY, Galarza-Delgado DA, Hernández-Soto NE,  
Esquivel-Valerio JA , Rodríguez-Amado J, Villarreal –Alarcón MA,

- Skinner-Taylor CM, Flores-Alvarado DE, Garza-Elizondo MA.  
Descripción de una cohorte de 165 pacientes con lupus eritematosos  
generalizado: Un énfasis al involucro neurológico. *Revista Mexicana  
de Reumatología*.2005;Vol.20 (1),pp 92.
24. Hernández-Soto NE, Saucedo-Durán AY, Esquivel-Valerio JA,  
Rodríguez-Amado J, Flores-Alvarado DE, Skinner-Taylor CM,  
Villarreal –Alarcón MA, Galarza-Delgado, Garza-Elizondo MA. La  
inmunohistoquímica en el diagnóstico diferencial entre  
Granulomatosis de Wegener y linfoma extranodal NK/tipo nasal.  
*Revista Mexicana de Reumatología*.2005;Vol.20 (1),pp 93.
25. Navarro Cano G, García-Hernández PA, Galarza Delgado DA.,  
Skinner Taylor CM, Esquivel Valerio JA,Villarreal Alarcón MA,  
Rodríguez Amado J, Dr. Garza Elizondo. Análisis de la respuesta a  
tratamiento de pacientes con densitometría subsecuente de un centro  
de diagnóstico de osteoporosis (op). *Rev Metab Oseo Min* 2005;  
3(1):179-206.
26. Navarro Cano G, García-Hernández, Galarza Delgado DA, Flores  
Alvadao DE, Dr. Esquivel-Valerio JA, Dr. Villarreal Alarcón MA,  
Rodríguez-Amado J, Garza Elizondo MA. Tendencia de tratamiento  
en pacientes con Osteoporosis y osteopenia, respuesta  
densitométrica a estos según la especialidad del médico tratante. *Rev  
Metab Oseo Min* 2005; 3(1):179-206.
27. Garza M, Esquivel J, Galarza D, Flores D, Skinner C, Rodríguez J,  
Villarreal M, Saucedo Y, Pérez L, Muñoz J, Gómez A. Trasplante

autólogo ambulatorio de células madre en sangre periférica en Lupus Eritematosos Sistémico. Revista Reumatología Clínica 2006 Vol. 2 Num.1 Enero-Febrero.

28. Peláez-Ballestas I, Burgos-Vargas R, Vázquez-Mellado J, Hernández-Garduño A., Bernard A, Garza M, Terán L, Aceves F, Ventura L, Shumsky C., Esquivel J, Goycochea M, Ramos-Remus C, Casasola J, Rodríguez J, Lino L, Álvarez E, Espinoza J. Costos de Artritis Reumatoide de inicio temprano, Espondilitis Anquilosante y Gota: estudio multicéntrico Revista Reumatología Clínica 2006 Vol. 2 Num.1 Enero-Febrero.

29. Peláez-Ballestas I, Burgos-Vargas R, Vázquez-Mellado J, Hernández-Garduño A., Bernard A, Garza M, Terán L, Aceves F, Ventura L., Shumsky C., Esquivel J, Goycochea M, Ramos-Remus C, Casasola J, Rodríguez J, Lino L, Álvarez E, Espinoza J. Medición del Estado de salud (SF-36) en enfermedades Reumáticas: Estudio Multicentrico. Revista Reumatología Clínica 2006 Vol. 2 Num.1 Enero-Febrero.

30. Saucedo-Durán AY, Pérez-Barbosa L, Villarreal-Alarcón MA, Esquivel-Valerio JA, Flores-Alvarado DE, Skinner-Taylor CM, Rodríguez-Amado J, Galarza-Delgado DA, Garza-Elizondo MA. Artritis séptica por *Nocardia* en Lupus Eritematoso Generalizado. Revista Reumatología Clínica. 2006;2(1) C115.

31. Rodríguez J, Esquivel J, Garza M, Galarza D, Villarreal M, Skinner C, Flores D, Saucedo Y, Pérez L, Muñoz J, Efecto de Adalimumab sobre densidad mineral ósea de pacientes con Artritis Reumatoide.



Estudio preliminar. Revista Reumatología Clínica 2006 Vol. 2 Num.1 Enero-Febrero.

32. Saucedo-Durán AY, Pérez-Barbosa L, Rodríguez-Amado J, Esquivel-Valerio JA, Skinner-Taylor CM, Flores-Alvarado DE, Galarza-Delgado DA, Villarreal-Alarcón MA, Garza-Elizondo MA. Espondiloartropatías refractarias a tratamiento convencional tratadas con adalimumab a dosis bajas. Resultados preliminares. Revista Reumatología Clínica 2006 Vol. 2 Num.1 Enero-Febrero.
33. Saucedo-Durán AY, Pérez-Barbosa L, Galarza-Delgado DA, Skinner-Taylor CM, Flores-Alvarado DE, Esquivel-Valerio JA, Rodríguez-Amado J, Villarreal-Alarcón MA, Garza-Elizondo MA. Hemorragia alveolar en pacientes con enfermedades autoinmunes. Revisión de una serie de 15 casos. Revista Reumatología Clínica 2006 Vol. 2 Num.1 Enero-Febrero.
34. Saucedo-Durán AY, Pérez-Barbosa L, Cordero-Pérez P, Villarreal-Alarcón MA, Esquivel-Valerio JA, Rodríguez-Amado J, Skinner-Taylor CM, Muñoz-Espinosa LE, Flores-Alvarado DE, Galarza-Delgado DA, Garza-Elizondo MA. Descripción de los niveles de leptina, insulina, adiponectina y densidad mineral ósea en pacientes con esteatohepatitis no alcohólica. Revista Reumatología Clínica 2006 Vol. 2 Num.1 Enero-Febrero.
35. Muñoz J, Galarza D, Esquivel J, Garza M, Skinner C, Flores D, Rodríguez J. Anticuerpos Antipeptidos citrulinados en pacientes con

Artritis Reumatoide con nódulos reumatoides. Hallazgos preliminares. Rheumatol Clin.2006;2(1) C061

36. Hernández-Soto NE, Saucedo-Durán AY, Esquivel-Valerio JA, Rodríguez-Amado J, Flores-Alvarado DE, Skinner-Taylor CM, Villarreal –Alarcón MA, Galarza-Delgado, Garza-Elizondo MA. La inmunohistoquímica en el diagnóstico diferencial entre Granulomatosis de Wegener y linfoma extranodal NK/tipo nasal Revista Mexicana de Reumatología.2005;Vol.20 (1),

Publicaciones internacionales en resumen . (Autor, titulo, revista, año, volumen, paginas).

1. Galarza-Delgado DA; Esquivel-Valerio JA; De la Garza N, Garza-Elizondo MA Methotrexate in Lupus Nephritis: An uncontrolled Study, Preliminary Results. Arthritis and rheumatism. Vol 34, No. 9(Suppl) S140, 1991.
2. Escalante, A., D. Galarza-Delgado, TD Beardmore, BA Baethge, J. Esquivel-Valerio, AL Marines, and M. Mingrone Crossing Borders with outcome measures: Crooss- cultural use of a brief questionnaire . Arthritis and Rheumatism Supp Vol. No.9 , S 178. 1995
3. Navarro-Cano G; Esquivel-Valerio JA, Galarza-Delgado DA; Garza-Elizondo MA Prevalence of Chlamidia Ocular infection in patients with

rheumatoid arthritis who are taking glucocorticoids. Arthritis and Rheumatism Vol.44, No. 9(Supplement), pp S173. September 2001.

4. Benavides Brito H., Navarro-Cano G.,Cavazos-Adame H. García-Gallegos G.,Esquivel-Valerio JA, et al. The Evolution Time in Rheumatic Diseases is associated with ocular toxicity by chloroquine. Annals of Rheumatic Disease Vol. 62 Supplem 1. pp 338 (abstract). 2003.
5. Navarro-Cano G., Galarza-Delgado D.,Esquivel-Valerio JA., Skinner Taylor C. Mohamed-Hamscho J., Garza-Elizondo MA. Chlamydia ocular infection in patients with rheumatoid arthritis(RA) without previous diagnosis of Ophthalmologic Disease. Annals of Rheumatic Disease Vol. 62 Supplem 1. pp 339 (abstract ). 2003.
6. Navarro-Cano G., Galarza-Delgado D.,Cavazos-Adame H.,Esquivel-Valerio JA., Villarreal-Alarcon MA., Garza-Elizondo MA. The Importance of one Direct Interrogation of Ocular Symptoms in Patients with Rheumatoid Arthritis (RA), Without Previous Diagnosis of Ophthalmologic Disease. Annals of Rheumatic Disease Vol. 62 Supplem 1. pp 339 (abstract ). 2003.
7. Demographics and clinical characteristics of early RA in an inception cohort of Latin American Patients. GLADAR (Grupo LatinoAmericano De Artritis Reumatoidea). Journal of Clinical Rheumatology 2006; 12:S41, Supplement 2006.
8. Treatment of early rheumatoid arthritis (RA) in a multinational inception cohort of Latin American pacientes. (Grupo LatinoAmericano De Artritis

Reumatoidea). Journal of Clinical Rheumatology 2006; 12:S51, Supplement 2006.

9. J. Mould., I. Pelaez-Ballestas, A. Hernandez Soto, C.Ramos Remus, J.Vazquez Mellado, J. Esquivel, y cols. A Multicenter study to Assess the Cost of Rheumatoid Arthritis (RA), Ankilosing Spondylitis(AS) and Gout. Annals of The Rheumatic Diseases. July 2006, Vol. 65 Supplement 11, pag 598 (SAT 0490).
10. I. Pelaez-Ballestas, L. Hernandez Soto, C.Hernandez-Cuevas, L. Teran, J. Espinoza, J. Esquivel, y cols. Performance of EULAR based recommendations for diagnosis in Gout patients . Annals of The Rheumatic Diseases. July 2007, Vol. 66 Suppl, pag 236

Editor o Co-editor de libros ( Editor (es), titulo del libro, editorial, año).

1. Esquivel-Valerio JA, Galarza-Delgado DA; Skinner-Taylor C; Garza-Elizondo MA Manual de Reumatología. Facultad de Medicina UANL. . Impreso en la Subdirección de Educación Médica Continua de la UANL. 1ª. Edición. 2000, y reimpresión en 2002

Autor de capítulos de libros ( Editor (es), titulo del libro, editorial, año).

2. Esquivel-Valerio JA, Galarza-Delgado DA; Garza-Elizondo MA Fascículo de Reumatología . Sistema de Actualización Médica. Medicina Interna. SAM MI; Fascículo A-2, Reumatología, páginas 4-39 y 65-69. Septiembre de 1998.

3. Esquivel-Valerio JA, Galarza-Delgado DA; Skinner-Taylor C; Garza-Elizondo MA Manual de Reumatología. Facultad de Medicina UANL. Impreso en la Subdirección de Educación Médica Continua de la UANL 1ª. Edición. 2000, y reimpresión en 2002
4. Galarza Delgado, Dionicio, Jorge A. Esquivel-Valerio. Mofetil Micofenolato. Capítulo 3. Nuevas Terapias en Reumatología. Dr. Francisco Ramos Niembro. 2002. Intersistemas S. A de C. V.
5. Ancer-Rodriguez J, Treviño-Garza C, Marfil-Rivera A y cols. "Texto de Apoyo para el Curso de Capacitación para el examen Nacional de Residencias Médicas". Proveedora Grafica Mexicana S.A. de C. V.2003 ( ISBN 970-694-101-0).
6. Garza-Elizondo MA Esquivel-Valerio JA, Galarza-Delgado DA; Introducción a la Reumatología. Tercera Edición 2003. Editor: Píndaro Martínez-Elizondo. Capítulo 32. Fenómeno de Raynaud. pp 332-338.
7. Garza-Elizondo MA, Esquivel-Valerio. Dolor: Un enfoque práctico por especialidades. Capítulo: Dolor en Reumatología.Editor: Dra. Sara Bistre Cohen. Grupo Editorial M&M S.A. de C.V. ISBN 968-9176-00-5. 2006.Primer Edición pp.43-58.

**Trabajos premiados:**

"Premio Dr. Antonio Reginato al mejor Trabajo Científico Clínico Epidemiológico del X Congreso de Reumatología del Cono Sur". Viña del Mar, Chile, 5 - 8 Octubre 2005. Como co-investigador en el proyecto GLADAR

**Otras distinciones:**

Presidente de La Sociedad Mexicana de Reumatología Capítulo Noreste 1995 a 1997.

Tesorero de la Asociación de Medicina Interna de Nuevo León 1998-99, 2000-2001, 2001-2002.

Vicepresidente de la Asociación de Medicina Interna de Nuevo León 2002-2003

Presidente electo de la Asociación de Medicina Interna de Nuevo León para período 2003-2004.

Presidente de la Asociación de Medicina Interna de Nuevo León A.C en el período 2003-2004.

Reconocimiento por la Subsecretaría de Educación Superior e Investigación Científica (SESIC) de la Secretaría de Educación Pública en el Programa de Mejoramiento al Profesorado (PROMEP) según oficio 103.5/02/1262 de julio 5 del 2002.

**CERTIFICACIONES:**

Certificación por el Consejo Mexicano de Medicina Interna en 1989:

E-1908-89.

Recertificación por el Consejo Mexicano de Medicina Interna –1995

R- 462-95

Recertificación por el Consejo Mexicano de Medicina Interna –2000

R-1277-2000

Certificación por el Consejo Mexicano de Reumatología en Enero 1990

R-234

Recertificación por el Consejo Mexicano de Reumatología Noviembre 25 de  
1997

Recertificación por el Consejo Mexicano de Reumatología Noviembre 19 del  
2002